

Aus dem Institut für Medizinische Psychologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Martha Merrow, PhD

Entwicklung eines mobilen Messgerätes zur Überprüfung der
Funktionsfähigkeit intrinsisch photosensitiver retinaler
Ganglienzellen

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von
Philipp Novotny
aus
München
2015

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Ernst Pöppel
Mitberichterstatter:	Priv. Doz. Dr. Kirsten H. Eibl-Lindner
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Prof. Dr. Herbert Plischke
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung:	16.11.2015

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGEN	IV
KONVENTIONEN	5
ABSTRACT	7
ZUSAMMENFASSUNG	9
EINFÜHRUNG	13
KAPITEL 1 – GRUNDLEGENDES ÜBER DEN MENSCHLICHEN WAHRNEHMUNGSAPPARAT	15
1. DIE AUFGABEN DES LICHTS FÜR DEN MENSCHEN	15
1.1 LICHT ZUM SEHEN	15
1.2 LICHT ZUM LEBEN	15
2. DIE WIRKUNG VON LICHT	16
2.1 AUFGABE DER ZAPFEN, STÄBCHEN UND RETINALEN GANGLIENZELLEN	16
2.2 SUBTYPEN DER INTRINSISCH PHOTOSENSITIV RETINALEN GANGLIENZELLEN (IPRGCs)	18
2.3 DIE M1-GANGLIENZELLE	18
2.4 DER PUPILLEN-LICHT-REFLEX IN ABHÄNGIGKEIT VON DER WELLENLÄNGE DES LICHTS	19
2.5 MELATONIN UND CIRCADIANE RHYTHMIK	21
3. MOTIVATION	23
3.1 DER WISSENSCHAFTLICHE NUTZEN	24
3.2 DER GESELLSCHAFTLICHE NUTZEN	24
3.3 VERFÜGBARKEIT ANWENDBARER GERÄTE	24
4. HYPOTHESE	25
KAPITEL 2 – MATERIAL & METHODEN	27
1. VERSIONSHISTORIE PUPILLOMETRIEBRILLE	27
1.1 KONZEPT	27
1.1.1 BELEUCHTUNGSEINHEIT	29
1.1.2 KAMERAMODUL	30
1.2 PUPILLOMETRIEBRILLE VERSION 1	30
1.3 PUPILLOMETRIEBRILLE VERSION 2A	32

1.4	SPEZIFIKATIONEN	32
1.4.1	BELEUCHTUNGSEINHEIT	32
1.4.2	LEUCHTDICHTE UND HOMOGENITÄT	35
1.4.3	LICHTPROTOKOLL	36
1.4.4	KAMERAMODUL	38
1.4.5	SOFTWARE	39
1.5	PUPILLOMETRIEBRILLE VERSION 2B	39
1.6	BEURTEILUNG GESUNDHEITSGEFÄHRDENDER RISIKEN	40
1.6.1	EPILEPSIE	40
1.6.2	BLAULICHTGEFÄHRDUNG - BLUE LIGHT HAZARD (BLH)	41
2.	ETHIK	41
3.	PROBANDEN	42
3.1	POPULATIONSGRUPPE 1 – GESUNDE ERWACHSENE	42
3.2	POPULATIONSGRUPPE 2- DEMENZPATIENTEN	43
4.	MESSDATEN	44
4.1	POPULATIONSGRUPPE 1 – GESUNDE ERWACHSENE	44
4.2	POPULATIONSGRUPPE 2 – DEMENZPATIENTEN	45
5.	STATISTISCHE BEURTEILUNG	46
KAPITEL 3 – ERGEBNISSE		48
1.	ERGEBNISSE UND STATISTISCHE BEWERTUNG VON POPULATIONSGRUPPE 1	48
1.1	VERHALTEN DER PUPILLE GEGENÜBER UNTERSCHIEDLICHEN LICHTREIZEN	48
1.1.1	PUPILLENVERHALTEN DER TESTGRUPPE	48
1.1.2	AUFFÄLLIGES PUPILLENVERHALTEN	51
1.2	STATISTISCHE AUSWERTUNG	55
1.2.1	UNTERSCHIED ZWISCHEN DEN LICHTSTIMULI	55
1.2.2	GESCHLECHTERSPEZIFISCHER UNTERSCHIED	56
1.3	EFFEKTSTÄRKE	58
1.4	POWER (TESTSTÄRKE)	59
2.	ERGEBNISSE UND STATISTISCHE BEURTEILUNG VON POPULATIONSGRUPPE 2	61
2.1	STATISTISCHE AUSWERTUNG	65
2.2	EFFEKTSTÄRKE	66
2.3	POWER (TESTSTÄRKE)	68
KAPITEL 4 – DISKUSSION		69

1. POPULATIONSGRUPPE 1 – GESUNDE ERWACHSENE	69
1.1 BEWERTUNG DER MESSERGEBNISSE	69
1.2 UNTERSCHIED ZWISCHEN DEN GESCHLECHTERN	70
1.3 SONDERFÄLLE	70
1.3.1 PROBAND – STOFFWECHSELERKRANKUNG	70
1.3.2 PROBAND – 70+	70
2. POPULATIONSGRUPPE 2 - DEMENZPATIENTEN	70
3. SICHERHEIT DER PROBANDEN	71
4. LIMITIERUNGEN DIESER UNTERSUCHUNG	72
KAPITEL 5 – ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	73
ANHANG	76
LITERATURVERZEICHNIS	85
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	90

Abkürzungen

BLH	Blaulichtgefährdung (engl. Blue Light Hazard)
ipRGCs	intrinsisch photosensitive retinale Ganglienzellen (engl. intrinsically photosensitive retinal ganglion cells)
IR	Infraroter Spektralbereich (780nm bis 1.000.000nm)
OPN	Nucleus praetectalis (engl. olivary pretectal nucleus)
PLR	Pupillen-Licht-Reflex
PWM	Pulsweitenmodulation
RGCs	retinale Ganglienzellen (engl. retinal ganglion cells)
SCN	Nucleus suprachiasmaticus (engl. suprachiasmatic nucleus)
UV	Ultravioletter Spektralbereich (100nm bis 380nm)

Konventionen

Alle in dieser Arbeit dargestellten Zahlenwerte verwenden Komma als Dezimaltrennzeichen und den Punkt als Tausendertrennzeichen sofern nicht ausdrücklich anders angegeben wird.

Zur Vereinfachung des Leseflusses wird auf eine gleichzeitige Verwendung einer weiblichen und männlichen Sprachform verzichtet. Sofern nicht explizit angegeben beziehen sich alle Personenbezeichnungen sowohl auf das weibliche, als auch auf das männliche Geschlecht.

Literaturangaben zu Buchliteratur und Artikeln aus Fachjournalen finden sich im entsprechenden Abschnitt dieser Arbeit. Buchliteratur ist an den entsprechenden Stellen zusätzlich mit der Seitenzahl angegeben und im Literaturverzeichnis der Übersichtlichkeit wegen einmalig als ganzes Werk aufgeführt.

Abstract

Within this doctoral thesis a mobile measurement system was developed and evaluated, that is capable of testing the functionality of the intrinsic photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs) of the type M1-Brn3b-positive by means of the consensual pupillary light reflex. Beside rods and cones, five other types of photosensitive receptors have been discovered. The M1 type, which is interesting for this thesis, has two purposes depending if one transcription factor (Brn3b) is present or not. Either the M1 cell controls the daily synchronisation of the suprachiasmatic nucleus (SCN) (Brn3b negative), and therefore our inner clock or it controls the pupillary light reflex (PLR) (Brn3b positive). From recent publications it is known that depending on the wavelength the PLR reacts different. With a red or blue light stimulus, the pupil constricts. After the stimulus is switched off, the pupil dilates again but with different speed. With this difference it is possible to determine the functionality of the ipRGCs of the M1-Brn3b-positive type. It has to be assumed that in case of a retinal damage not only the positive type, but also the negative type is harmed and therefore, a synchronisation is disturbed. An application could be for example the screening of demented elderly with a disturbed day and night cycle. If their ipRGCs are still functioning, morning light therapy could be used to stabilize their wake and sleep behaviour. But with a detected defect other means of help like adapted medication could be used to improve day and night cycles.

The developed measurement system is equipped with a stimulus generator for red, green, and blue (RGB) light as also their mixed colours. The system has an infrared video camera with an analogue output. Both, the stimulus generator and the infrared camera are mounted on a stable frame that either the participant or the investigator can easily put this measurement goggle on. Due to its light and small construction this device can be used in the field and prevents that within a thoughtless head movement the camera loses the eye. The stimulus generator can excite one of the eyes with an individual light protocol. The colouring is done with RGB-LEDs. The inside of a hemispherical dome, that is covered with a matt white coating illuminates homogeneously. For the illumination a total luminance of 120 cd/m² is possible. The consensual PLR is measured with the infrared video camera on the other eye. The pupil reaction is analysed later on.

The system was tested on two different groups of population. The first group has been of 24 healthy adults in the age of 21 to 58 years. The second group has been of 34 demented elderly in the age of 60 to 99 years. People from population group one have been tested each with a light protocol consisting of three red and three blue light stimuli with a length of 1 s. In population group two the stimulus length was 11 s where the first 10 s the light intensity increased to the maximum to minimize glare. Each participant was tested five times with red and blue light.

The results for group 1 show, that after a short period of time ($>0,5$ s) the light stimulation the PLR was significantly different ($p < .05$) for red and blue light.

The results for group 2 have been considered individually, because of the declining transmission for blue spectral parts of light through the eye lens as also possible eye diseases. Of the 34 participants, only the measures of eight persons could be used due to a very high amount of artefacts. Two of the eight persons showed a significant difference ($p < .05$) in pupil response for red and blue light stimulation. The other six participants had no difference. Therefore, it has to be assumed that either the opacity of the eye lens or an eye disease caused a reduction in the stimulation of the ipRGCs, or even the stimuli transfer due to advanced dementia has been disturbed. Nevertheless, the new insights with demented elderly has helped to improve future designs of the measurement device.

Overall, it could be shown that the behaviour of the ipRGCs could be measured due to the consensual PLR within this work and with this mobile measurement system.

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Promotionsarbeit wurde ein mobiles Messsystem zur Untersuchung der Funktionsfähigkeit der intrinsisch photosensitiven retinalen Ganglienzellen (ipRGCs) des Typs M1-Brn3b-positiv anhand des konsensuellen Pupillen-Licht-Reflexes entwickelt und evaluiert. Neben den Stäbchen und Zapfen gibt es fünf weitere Typen von Ganglienzellen, die auf Lichtreize reagieren. Der Typ M1, der für diese Arbeit von Bedeutung ist, erfüllt dabei zwei Aufgaben, abhängig davon ob ein Transkriptionsfaktor (Brn3b) enthalten ist oder nicht. Einerseits steuert er die zeitliche Synchronisation des Nucleus suprachiasmaticus (SCN) (Brn3b negativ) mit der Außenwelt und damit unsere Innere Uhr. Andererseits regelt er den Pupillen-Licht-Reflex (PLR) (Brn3b positiv). Aus früheren Publikationen ist bekannt, dass sich der Pupillen-Licht-Reflexes, abhängig von der Wellenlänge, unterschiedlich verhält. Appliziert man einen Lichtreiz im roten oder blauen Spektralbereich, so erfolgt eine Konstriktion der Pupille bis der Lichtreiz aufhört. Es folgt eine Dilatation zum Ausgangszustand. Jedoch gibt es eine zeitliche Differenz zwischen einem roten und einem blauen Lichtreiz, bis der Ausgangszustand erreicht wird. Auf diese Weise lässt sich die Funktionsfähigkeit der ipRGCs des Typs M1-Brn3b-positiv bestimmen. Es ist davon auszugehen, dass bei einem Netzhautschaden neben diesem Ganglientyp ebenfalls der Typ M1-Brn3b-negativ betroffen und damit eine Synchronisation gestört ist. Eine mögliche Anwendung wäre zum Beispiel das Screening von Demenzpatienten, deren Tages- und Nachtrhythmus gestört ist. Bei intakten ipRGCs könnte der Rhythmus durch eine morgentliche Lichttherapie gestärkt werden, um das Wach- und Schlafverhalten positiv zu beeinflussen. Bei einem erkannten Defekt ließe sich mit Medikamenten der Tages- und Nachtrhythmus wieder stabilisieren.

Das entwickelte Messsystem besitzt einen Reizgeber für rot, grün und blau (RGB), beziehungsweise für deren Mischfarben, und eine Infrarotmesskamera mit einem analogen Videooutput. Der Reizgeber und die Kamera sind auf einem massiven Brillengestell befestigt und können von der Versuchsperson oder dem Versuchsleiter einfach aufgezogen werden. Diese leichte Konstruktion ermöglicht es auch Messungen im Feld durchzuführen und verhindert, dass das Auge aufgrund einer Kopfbewegung aus dem Sichtfeld der Kamera rutscht. Eines der beiden Augen wird

mit einem Lichtreiz stimuliert. Das Protokoll für die Reizgabe lässt sich beliebig gestalten. Die Farbgestaltung erfolgt über RGB-LEDs. Hierzu wird die matt-weiß beschichtete Innenseite eines halbkugelförmigen Doms durch die LEDs homogen ausgeleuchtet. Für die Beleuchtung sind bis zu 120 cd/m^2 möglich. Der konsensuelle PLR wird am anderen Auge mit der Infrarotmesskamera aufgezeichnet. Die Pupillenreaktion wird im Anschluss ausgewertet.

Getestet wurden zwei unterschiedliche Populationsgruppen. Populationsgruppe 1 bestand aus 24 gesunden Erwachsenen im Alter von 21 bis 58 Jahren und Populationsgruppe 2 bestand aus 34 Menschen mit einer Demenzerkrankung im Alter von 60 bis 99 Jahren. An Populationsgruppe 1 wurde ein Protokoll mit einem 1 s andauernden Lichtstimulus getestet. Jede Versuchsperson wurde mit einem roten und blauen Lichtreiz jeweils dreimal getestet. An Populationsgruppe 2 wurde ein Protokoll mit einem 11 s andauernden Lichtstimulus getestet. In den ersten 10 s stieg die Intensität bis zum Maximum langsam an, um eine akute Blendung zu vermeiden. Jede Versuchsperson wurde mit einem roten und blauen Lichtreiz jeweils fünfmal getestet.

Die Ergebnisse für Populationsgruppe 1 zeigen, dass bereits kurz nach dem Lichtstimulus das Verhalten des PLR für beide Farben unterschiedlich ist. Nach $>0,5 \text{ s}$, nachdem der Lichtstimulus abgeschaltet wurde, sind der PLR für einen roten bzw. blauen Lichtstimulus für $p < .05$ signifikant unterschiedlich.

Die Ergebnisse zu Populationsgruppe 2 wurden individuell betrachtet, da davon auszugehen ist, dass im fortgeschrittenen Alter die Durchlässigkeit der Linse für den blauen Spektralanteil im Licht reduziert ist und von Person zu Person variiert. Von den 34 Versuchsteilnehmern konnten nur acht Personen ausgewertet werden, da die Messungen mit einer hohen Anzahl von Artefakten behaftet gewesen sind, die eine Auswertung nicht möglich gemacht haben. Zwei von den acht auswertbaren Personen zeigten eine signifikante Differenzierbarkeit des Pupillenverhaltens ($p < .05$). Für die anderen sechs Personen war dies nicht möglich, weswegen davon auszugehen ist, dass entweder die Trübung der Augenlinse oder eine eventuelle Augenerkrankung die Reizung der ipGRCs abschwächt oder gar die Reizweiterleitung aufgrund der fortgeschrittenen Demenz stark gestört ist. Dennoch

konnten die Erkenntnisse, die bei den Messungen mit Demenzpatienten erworben wurden, in die weitere Entwicklung für das Messgerät mit einfließen.

Es konnte gezeigt werden, dass das Verhalten der ipRGCs aufgrund des konsensuellen PLR mit diesem mobilen Messgerät unterschieden werden kann.

Einführung

Licht ist mehr als nur das Umlegen eines Schalters, um im Dunkeln etwas sehen zu können. Licht kann warnen, Licht kann unterstützen, Licht kann heilen und Licht kann steuern.

In den folgenden Kapiteln soll ein kurzer Überblick darüber gegeben werden, wie visuell sichtbares Licht auch nicht-visuelle Elemente im menschlichen Körper beeinflussen und steuern kann. Dem Leser soll ein kurzer Einblick in den derzeitigen Stand der Wissenschaft gegeben werden, wie die Wissenschaft aktuell in der Lage ist, die Wirkung von Licht auf den Menschen zu beurteilen, und wie diese Arbeit versucht, der Wissenschaft ein weiteres Hilfsmittel in die Hand zu geben, um tiefgreifende Forschung betreiben zu können.

Im ersten Teil dieser Arbeit wird ein kurzer Blick auf die Wirkung von Licht auf den Menschen gegeben. Im Fokus liegen dabei erst vor kurzem neu entdeckte Zellen, die jedoch einen großen Einfluss auf unser Tages- und Nachtverhalten haben. Im Anschluss soll eine Möglichkeit aufgezeigt werden, wie die Funktionsweise dieser Zellen getestet werden kann. Hierzu werden zwei Populationsgruppen mit einem bestehenden Testprotokoll zur Überprüfung dieser Zellen in einer abgewandelten Form untersucht. Das Messverfahren wird dann bewertet und weitere Vorschläge sowie Anwendungsbereiche diskutiert.

Kapitel 1 – Grundlegendes über den menschlichen Wahrnehmungsapparat

1. Die Aufgaben des Lichts für den Menschen

1.1 Licht zum Sehen

Licht¹, oder besser gesagt sichtbares Licht, ist das, was wir mit unseren Augen wahrnehmen. Es ermöglicht uns, ein Auto, einen Baum oder einen anderen Menschen zu sehen. Licht ist ein kleiner Teil des optischen Spektrums, der wiederum auch nur einen kleinen Teil des elektromagnetischen Spektrums darstellt. Das menschliche Auge ist im sichtbaren Licht, das einen Wellenlängenbereich von 380 nm bis 780 nm einschließt, empfindlich. Dabei geht es in den Farben von Violett (ab 380 nm) über Blau, Grün, Gelb und Orange nach Rot (bis 780 nm). Zusätzlich zum sichtbaren Licht beinhaltet der optische Bereich des elektromagnetischen Spektrums Bereiche vor und nach dem sichtbaren Licht. Der Ultraviolettbereich (UV) ist von 100 nm bis 380 nm und der Infrarotbereich (IR) von 780 nm bis 1 mm (1.000.000 nm) definiert (Kühlke 2004, S. 2).

1.2 Licht zum Leben

Neben der Fähigkeit, unsere Umgebung wahrzunehmen, beeinflusst das Licht auch unser Leben. So ist nachgewiesen, dass der nicht-sichtbare UV-Bereich zur Bildung von Vitamin D₃ benötigt wird (Silbernagl, Despopoulos et al. 2003, S. 291 f, Schmidt and Lang 2007, S. 745). Licht kann aber auch eingesetzt werden, um Verletzungen und Verspannungen zu behandeln. Dabei wird die Tiefenwirkung von rotem Licht bzw. Licht aus dem IR-Bereich genutzt. Mit Licht lässt sich zum Beispiel auch die bei Jugendlichen und manchem Erwachsenen stark auftretende Akne behandeln (Papageorgiou, Katsambas et al. 2000). Im Internet finden sich weitere Beispiele für kosmetische und therapeutische Anwendungen von Licht oder dessen Artverwandten, dem LASER. Licht kann aber auch Einfluss auf den Gemütszustand nehmen. So wurde gezeigt, dass die Bestrahlung mit Licht bei Patienten, die unter

¹ Wenn in dieser Arbeit von dem Terminus „Licht“ gebrauch gemacht wird, so verweist dies immer auf sichtbares Licht mit einem Wellenlängenbereich von 380nm bis 780nm. Andernfalls wird im Text darauf hingewiesen, dass es sich um eine spezielle Lichtform handelt.

einer sogenannten Winterdepression leiden, einen positiven Effekt auf die Symptome dieser Depressionsform haben kann (Meesters, Dekker et al. 2011, Rastad, Ulfberg et al. 2011). Eine große Entdeckung war die Melatoninsuppression in Abhängigkeit der Wellenlänge λ und einem möglichen neuen Photorezeptor im Auge (Brainard, Hanifin et al. 2001, Thapan, Arendt et al. 2001).

2. Die Wirkung von Licht

Licht dringt bei geöffnetem Auge durch die Hornhaut und die Linse ein und gelangt durch den Glaskörper schließlich auf die Retina. Hier durchdringt das Licht unterschiedliche Schichten, in denen das Licht mit den Zellen interagiert und die im Folgenden aufgeführt werden.

2.1 Aufgabe der Zapfen, Stäbchen und retinalen Ganglienzellen

Zapfen

Bei höheren Lichtintensitäten sind die Zapfen aktiv. Sie ermöglichen uns untertags Farben wahrzunehmen (fotopisches Sehen). Dabei gibt es drei Arten von Zapfen, die entweder im kurzwelligen, mittelwelligen oder langwelligen Spektralbereich empfindlich sind. Dabei haben die jeweiligen Zapfen eine maximale Empfindlichkeit für K-Zapfen bei 420 nm (blau), für M-Zapfen bei 531/535 nm (grün) und für L-Zapfen 565/588 nm (gelb/rot) (Schmidt and Lang 2007, S. 393). Die höchste Konzentration der Zapfen ist rings um die Fovea, die Netzhautgrube, den Punkt des schärfsten Sehens. Die Anzahl der Zapfen beläuft sich auf etwa vier bis sechs Millionen Photorezeptoren (Silbernagl, Despopoulos et al. 2003, S. 348 f, S. 356 f, Remington 2012, S. 65 f, S. 78).

Stäbchen

Bei geringen Lichtintensitäten übernehmen die Stäbchen die Sehaufgabe. Dann spricht man von Dämmerungs- oder Nachtsehen (skotopisches Sehen). Stäbchen haben ihr Empfindlichkeitsmaximum bei 500/507 nm (grün) (Schmidt and Lang 2007, S. 393). Die Stäbchen liefern nur Grauwerte zurück, weswegen bei unzureichender Lichtmenge keine Farben wahrgenommen werden können. Im Gegensatz zu den Zapfen befindet sich die höchste Konzentration von Stäbchen etwa 30° rings um die Fovea. Die Gesamtzahl der Stäbchen ist etwa 20-mal höher als die der Zapfen (Silbernagl, Despopoulos et al. 2003, S. 348 f, S. 356 f, Remington 2012, S. 78).

Die Informationen der Zapfen und Stäbchen gelangen, vereinfacht dargestellt, vom Nervus opticus über das Chiasma opticum in den Occipitallappen im Gehirn, wo es zur Verarbeitung des Sehreizes und zur Zusammenstellung eines für den Menschen begreifbaren Bildes kommt (Gertz, Liebman et al. 2003, S. 99 f).

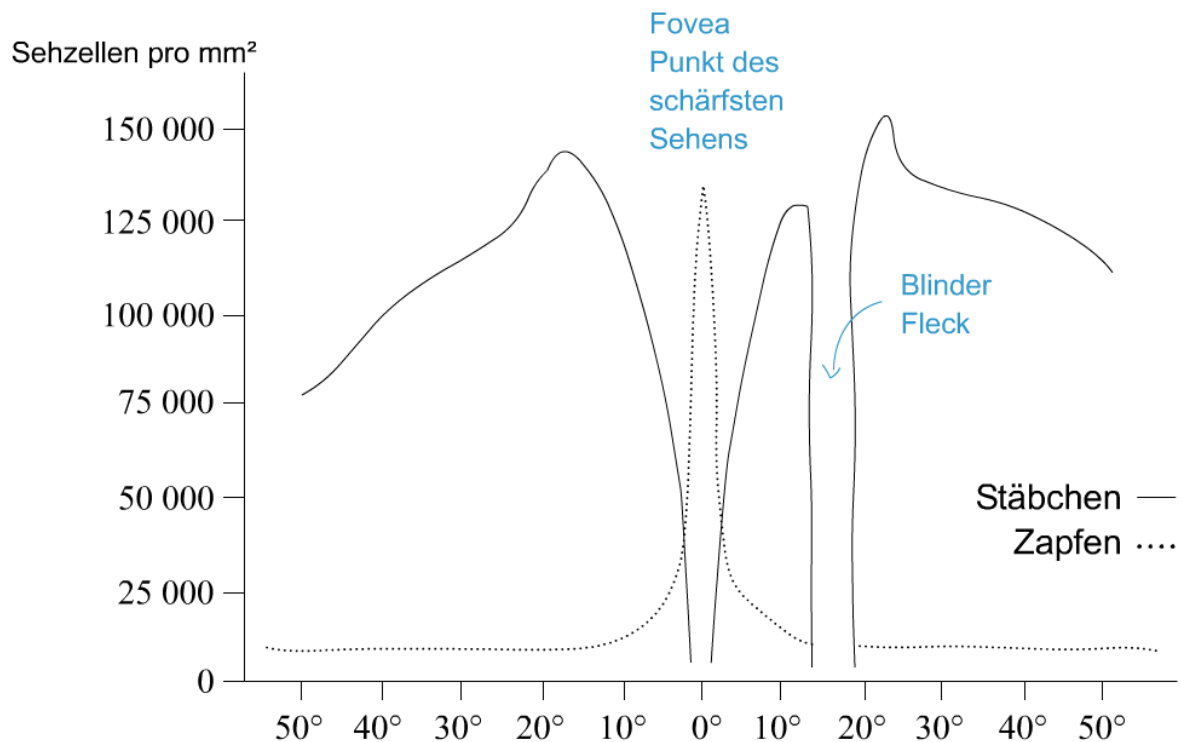


Abbildung 1: Verteilung der Stäbchen und Zapfen auf der Netzhaut.

Retinale Ganglienzellen

In der Netzhaut befinden sich auf der Augenninnenseite retinale Ganglienzellen (RGCs). Diese RGCs bilden einen ersten Knotenpunkt der Signalverarbeitung, in dem zum Beispiel eine Kontrastverstärkung stattfindet (Schmidt and Lang 2007, S. 396 ff). RGCs werden in unterschiedliche Ganglienzelltypen eingeteilt. Ursprünglich differenzierte man zwischen drei Typen von RGCs. Etwa 10% wurden als große α - (Y-) Zellen bezeichnet, Zellen mit schnell leitenden Axonen und einer kurzen Antwortzeit auf Lichtreize für die Bewegungserkennung. Für eine erhöhte Farb- und Mustererkennung sind kleine β - (X-) Zellen mit dünnen Axonen zuständig. Sie machen etwa 80% der Ganglienzelltypen aus. Die restlichen 10% werden von sogenannten γ - (W-) Zellen eingenommen, die über noch feinere Axome verfügen, die bis hin zum Mittelhirn reichen (Silbernagl, Despopoulos et al. 2003, S. 354 f, S. 358). Jüngere Untersuchungen und neuere Erkenntnisse haben jedoch gezeigt, dass

es innerhalb der RGCs Zelltypen gibt, die ihrerseits photosensitiv sind und damit eine weitere Gruppe innerhalb der retinalen Ganglienzellen, und neben den Stäbchen und Zapfen, sogar einen dritten photosensitiven Rezeptor bilden (Schmidt, Chen et al. 2011, Sand, Schmidt et al. 2012).

2.2 Subtypen der intrinsisch photosensitiv retinalen Ganglienzellen (ipRGCs)

Die ipRGCs stellen mit gerade einmal 0,2% (dies entspricht etwa 3000 ipRGCs pro Auge) einen winzigen Teil der RGCs dar (Dacey, Liao et al. 2005, Remington 2012, S. 83). Innerhalb dieser geringen Zahl von Ganglienzellen findet man wiederum mehrere Unterteilungen von Zelltypen mit unterschiedlichen Aufgabenbereichen, von denen einige noch unbekannt sind. Die ipRGCs werden in fünf Gruppen mit den Bezeichnungen M1 bis M5 unterteilt. Dabei unterscheiden sich diese Ganglienzellen in der Größe ihres Soma so wie der Größe, Form und Länge ihrer Dendriten. Hinzu kommt, dass sich die Dendriten in unterschiedlichen Ebenen der inneren plexiformen Schicht anordnen (Schmidt, Chen et al. 2011). Die M1-Zelle entspricht den frühen Beschreibungen der ipRGCs am ehesten, als noch nicht bekannt war, dass es mehrere Sub-Gruppen gibt (Schmidt, Chen et al. 2011, Munch and Kawasaki 2013). Sie bildet die am häufigsten vorkommende Zelle innerhalb der ipRGCs und steht mit ihren Eigenschaften und Funktionen im Fokus dieser Arbeit.

2.3 Die M1-Ganglienzelle

Im Vergleich zu den anderen ipRGCs sind M1-Zellen die empfindlichsten intrinsisch photosensitiven Ganglienzellen und haben die höchste Konzentration des Fotopigments Melanopsin (Schmidt and Kofuji 2009). Kürzlich wurde entdeckt, dass innerhalb der M1-Zellen erneut eine Unterscheidung dieser Ganglienzelle gemacht werden kann. Dabei betrachtet man den Transkriptionsfaktor *Brn3b*. *Brn3b*-Positive M1-Zellen reizen die äußere Hülle des Nucleus praetectalis (OPN), wohingegen *Brn3b*-Negative M1-Zellen zum Nucleus suprachiasmaticus (SCN) abstrahlen (Chen, Badea et al. 2011). Somit ergeben sich zwei Funktionen für den M1-Typ. Zum einen ist dies die Regulierung des Pupillen-Licht-Reflexes (PLR), wobei davon auszugehen ist, dass damit die *Brn3b*-Positiv M1-Zellen für Lichtreize die Haupt-, wenn nicht sogar die alleinigen, Reizgeber für den PLR darstellen. Zum anderen geben die *Brn3b*-Negativ M1-Zellen Signale an den SCN ab und steuern somit unseren Haupttaktgeber im Körper (Chen, Badea et al. 2011, Munch and Kawasaki 2013).

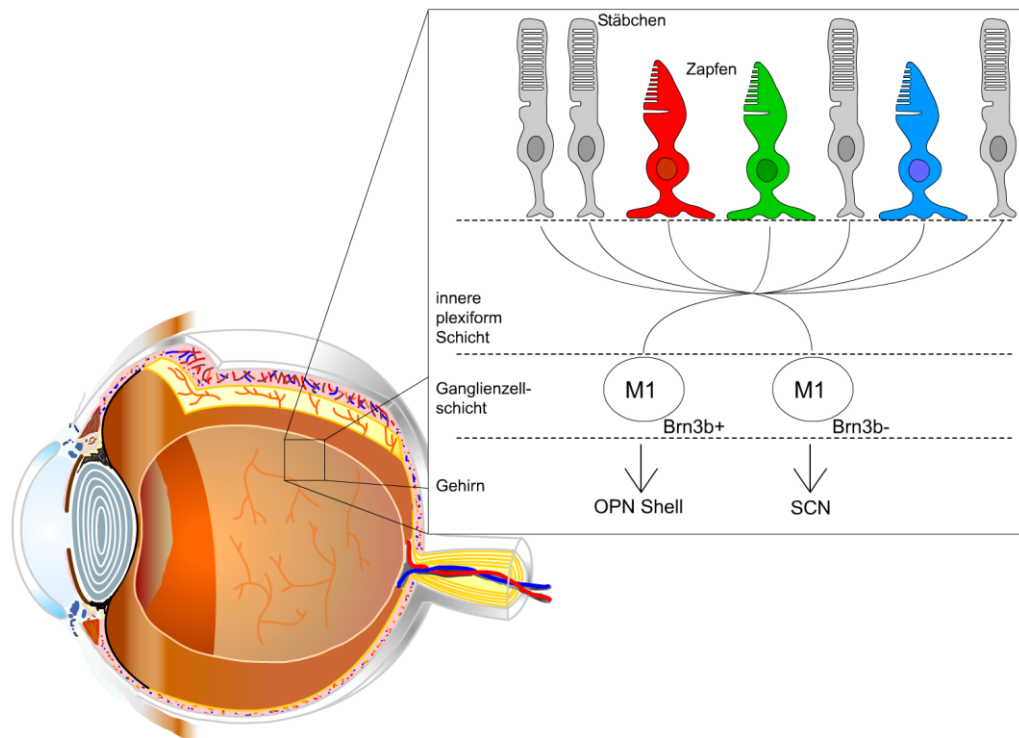


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Verknüpfung von Stäbchen und Zapfen und den M1-ipRGCs und deren Verbindung zu OPN und SCN.

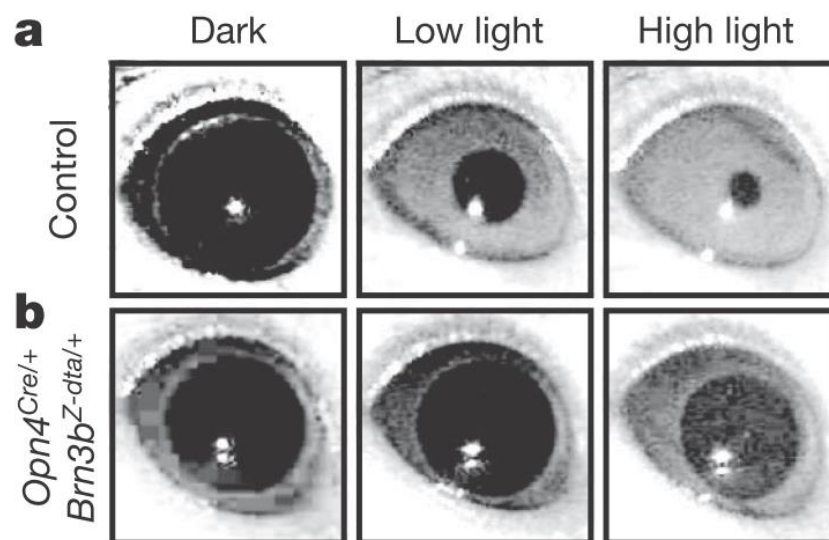


Abbildung 3: Genetisch modifizierte Mäuse bei denen entsprechende Gene ausgeschaltet wurden. a) Kontrollgruppe mit normalem PLR und b) entferntem Brn3b-Positiv in Mäusen mit verändertem PLR. (Chen, Badea et al. 2011)

2.4 Der Pupillen-Licht-Reflex in Abhängigkeit von der Wellenlänge des Lichts

Der PLR und seine Abhängigkeit von der Wellenlänge des Lichts ist mit der Entdeckung der ipRGCs wieder populär geworden, dabei wurde bereits Anfang der 60er Jahre ein Zusammenhang zwischen der statischen Pupillengröße und der

Wellenlänge und Helligkeit am menschlichen Auge festgestellt (Bouma 1962). Zu diesem Zeitpunkt war jedoch noch nicht klar, warum die Pupille in dieser Weise reagiert. Mit der Entdeckung der ipRGCs und dem neuentstandenen Forschungsinteresse wurden weitere Versuche unternommen, den PLR in Abhängigkeit von verschiedenen Lichtszenarien und –reizen zu untersuchen. Studien haben ergeben, dass sowohl Stäbchen und Zapfen, als auch ipRGCs gemeinsam an der Steuerung des PLR beteiligt sind. Die Steuerung der Pupillengröße ist jedoch situationsabhängig und der Einfluss beteiligter Rezeptoren variiert somit (Kankipati, Girkin et al. 2010, Park, Moura et al. 2011, Lucas, Peirson et al. 2014). Und dennoch stellt die Messung des PLR eine Möglichkeit dar, die Funktionsfähigkeit der ipRGCs zu testen, da sich der PLR in Abhängigkeit der Wellenlänge unterscheidet (Kardon, Anderson et al. 2009, Kankipati, Girkin et al. 2010) und sogar gezielt die Funktion einzelner Rezeptoren untersucht, bzw. deren Einfluss ausgeschlossen werden kann (Park, Moura et al. 2011).

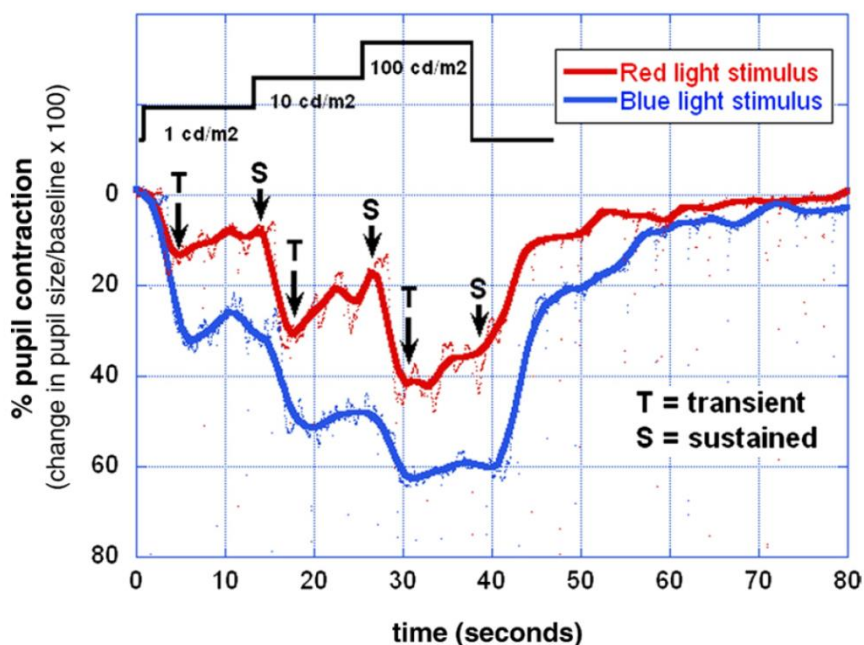


Abbildung 4: Die Ergebnisse des PLR für einen roten und einen blauen Stimulus von Kardon (Kardon, Anderson et al. 2009).

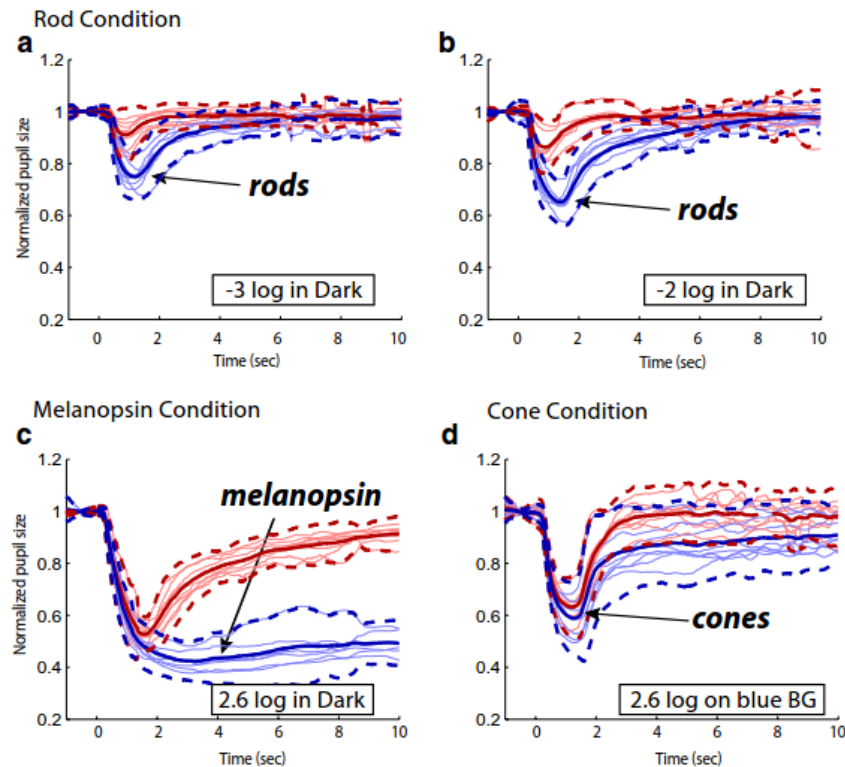


Abbildung 5: Rezeptorfunktion nach Park (Park, Moura et al. 2011). a) + b) Funktion der Stäbchen bei geringer Lichtintensität mit einem blauen Stimulus. b) Funktion der ipRGCs bei erhöhter Lichtintensität mit einem blauen Stimulus. d) Funktion der Zapfen mit erhöhter Lichtintensität und blauem Hintergrund.

2.5 Melatonin und Circadiane Rhythmik

Melatonin

Melatonin ist ein körpereigenes Hormon, welches in der Zirbeldrüse produziert und nachts ausgeschüttet wird. Aufgrund seiner ermüdenden Wirkung (Dawson and Encel 1993, Dollins, Zhdanova et al. 1994, Reiter 1996, S. 123 ff) wird es auch als ‚Schlafhormon‘ bezeichnet und findet entsprechend als synthetisch hergestelltes Mittel Verwendung als Einschlafhilfe. Darüber hinaus kann es dazu genutzt werden, Jet Lag schneller zu kurieren (Yu and Reiter 1992, S. 214 ff, Kleine and Rossmanith 2009). Weiterhin hat sich gezeigt, dass Melatonin einen großen Einfluss auf das Wachstum von Krebszellen hat (Schmidt and Lang 2007, S. 213, Erren, Pape et al. 2008). Wie weiter vorne bereits angedeutet, ist die Ausschüttung von Melatonin indirekt abhängig von der Wellenlänge λ . Die Zirbeldrüse erhält vom SCN die Informationen, wann mit der Ausschüttung von Melatonin begonnen und wann die Ausschüttung gegebenenfalls abgebrochen werden soll (Yu and Reiter 1992, S. 5 f). Hinzu kommen jedoch noch weitere Faktoren. So lässt sich die Ausschüttung von Melatonin in der Nacht besser unterdrücken, wenn der Mensch höheren

Lichtintensitäten ausgesetzt ist (McIntyre, Norman et al. 1989, Aoki, Yamada et al. 1998). Auch eine Abhängigkeit der Blickrichtung, genauer, welcher Part der Netzhaut bestrahlt wird (Adler, Kripke et al. 1992, Lasko, Kripke et al. 1999, Visser, Beersma et al. 1999, Glickman, Hanifin et al. 2003, Ruger, Gordijn et al. 2005), ja sogar wie die geometrischen Eigenschaften und damit der Raumwinkel des Leuchtkörpers sind, können die Suppression begünstigen (Novotny, Paulick et al. 2013).

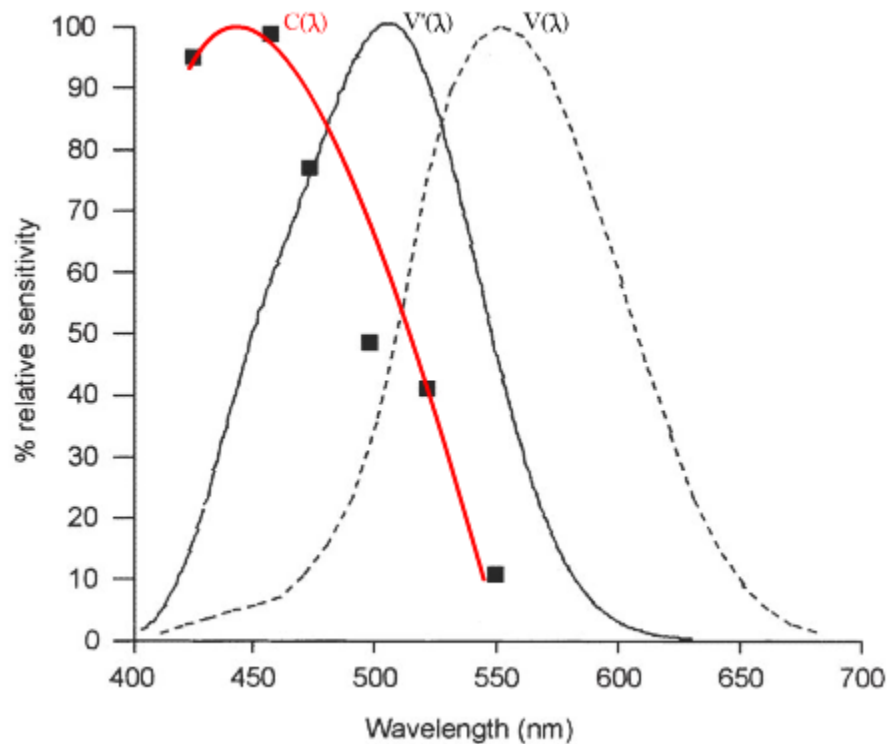


Abbildung 6: Spektrale Hellempfindlichkeitskurven des menschlichen Auges und die Empfindlichkeitskurve für die Melatoninsuppression nach Thapan (Thapan, Arendt et al. 2001)

Circadiane Rhythmik

Reicht der Reiz durch kurzwelliges Licht (blau) aus, um die M1-Zellen zu veranlassen, ein Signal an den SCN abzugeben, wird die Ausschüttung von Melatonin in der Zirbeldrüse verzögert oder unterbrochen. Auf diese Weise kann der Körper auf den Tag/Nacht-Wechsel synchronisiert werden (Yu and Reiter 1992, S. 201 f, Munch and Kawasaki 2013). Gibt es keinen Lichtreiz und damit keine Synchronisation, kann der Körper anfangen, frei zu laufen, das heißt, er fängt an, in seinem eigenen Rhythmus zu funktionieren. Dieser Rhythmus kann von Mensch zu Mensch unterschiedlich und entweder länger oder kürzer als ein 24h-Tag sein. Im Mittel ist der durchschnittliche Tag ohne Synchronisation 25h lang (Zulley 1993, S. 8 f). Ein kurzwelliger Lichtreiz (blau) kann zu einem positiven oder negativen

Phasenverzug des Tag/Nacht-Rhythmus führen. In diesem Fall spricht man von einem Phasenverzug oder im Englischen ‚Phase shift‘ (Wirz-Justice, Krauchi et al. 2004). Eine der bekanntesten Formen des Phasenverzugs stellt der Jet Lag dar, der umso deutlicher auftritt, je mehr Zeitzonen in kurzer Zeit überschritten werden. Dieser Phasenverzug bewirkt eine Irritation der ‚inneren Uhr‘ im Menschen. In diesem Fall spricht man dann auch von einer sogenannten ‚Chronodisruption‘. Chronodisruption kann jedoch auch ohne überschreiten der Zeitzonen, mit künstlichem Licht, erzeugt werden. So wird zum Beispiel Schichtarbeit mittlerweile als cancerogen eingestuft, weil die Störung des circadianen Rhythmus, beziehungsweise die daraus resultierende Chronodisruption, mit dafür verantwortlich gemacht wird (Erren, Pape et al. 2008, Erren, Morfeld et al. 2009). Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass aufgrund eines Defekts oder einer Erkrankung die Synchronisation nicht mehr korrekt abläuft. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass der Versuch, Demenzpatienten durch Lichttherapie zu unterstützen und neben einer Verbesserung der Tagesaktivität, Minderung des Tagschlafs und Reduzierung der Unruhe auch die Schlafdauer und Durchschlafzeiten positiv zu beeinflussen, nur bedingt funktioniert hat. Einerseits wird berichtet, dass ein Effekt gemessen werden konnte (Sloane, Williams et al. 2007, van Hoof, Aarts et al. 2009), in anderen Studien wird jedoch kein Einfluss auf das Schlafverhalten bei Demenzpatienten, sehr wohl aber bei dessen Pflegepersonal, erfasst (Friedman, Spira et al. 2012). Eine mögliche Ursache wird unter anderem den degenerativen Veränderungen auch im Bereich des SCN zugeschrieben (Ancoli-Israel, Martin et al. 2003). Langfristig kann eine Störung des Chronorhythmus ein erhöhtes Risiko für Krebs bergen (Erren, Pape et al. 2008) oder durch den dadurch schlechter resultierenden Schlaf einen negativen Effekt auf Demenzerkrankungen haben (Spira, Chen-Edinboro et al. 2014).

3. Motivation

Es gibt noch keine etablierte Methode, mit deren Hilfe sich Rückschlüsse auf die Funktionsfähigkeit der ipRGCs machen lassen, geschweige denn ein Instrument, mit dem dieser Nachweis möglich wäre. Bisher ist aus der Wissenschaft bekannt, dass die ipRGCs auf bestimmte Lichtreize reagieren. Einige dieser Mechanismen, die dabei ausgelöst werden, lassen sich schwerer oder umständlicher messen oder sind zeitlich aufwändiger als andere (zum Beispiel die Messung des Melatoninspiegels in der Nacht und dessen Suppression durch kurzwelliges Licht (blau)). Andere

Mechanismen, wie zum Beispiel der PLR, können schnell erhoben werden und sind im Bedarfsfall einfach zu wiederholen. Im Besonderen betrifft dies Kosten für Material und Personal, das notwendig ist, um eine Melatoninmessung durchzuführen. Der Markt bietet noch kein kommerziell erwerbbares Messgerät für diesen Einsatzzweck an. Diese Arbeit möchte die Grundlage für ein solches Hilfsmittel bereitstellen.

3.1 Der wissenschaftliche Nutzen

Wie in den vorangehenden Kapiteln bereits gezeigt, kann mit der Messung des PLR die Funktionsfähigkeit der ipRGCs bestimmt werden. Dies eröffnet die Möglichkeit eine breite Zahl von alten Forschungsthemen neu zu beleuchten, sowie neue Forschungsfelder zu erschließen.

3.2 Der gesellschaftliche Nutzen

Der PLR gibt nicht nur die Funktionsfähigkeit der ipRGCs wieder, er ist auch indirekt eine Kontrollgröße für andere Krankheitsbilder oder kann in Zukunft für bestimmte Krankheitsbilder als Screening-Methode verwendet werden. So könnte zum Beispiel der ansteigende Augeninnendruck, wie er bei Diabetes Mellitus Typ II auftreten kann, durch einen veränderten PLR vermutlich frühzeitig erkannt und behandelt und so mögliche Folgeschäden bis hin zur Erblindung rechtzeitig verhindert werden.

3.3 Verfügbarkeit anwendbarer Geräte

Eine große Schwierigkeit liegt in der Verfügbarkeit passender Geräte, im Besonderen mobiler Messgeräte. Die in den bisherigen Publikationen verwendeten Messgeräte sind groß und unhandlich und zumeist nur mit einer bestimmten Populationsgruppe zu verwenden. Diese Arbeit macht es deswegen zur Aufgabe ein kompakteres Messgerät zu entwickeln, welches vergleichbare Daten liefern kann.

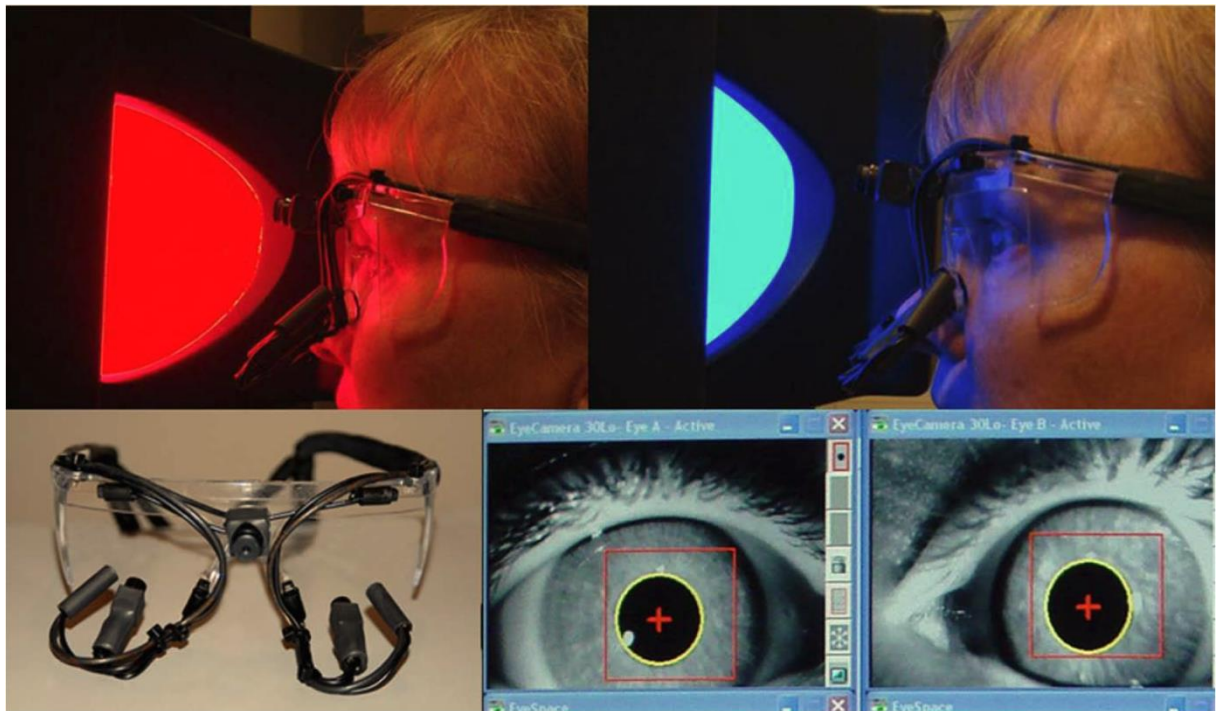


Abbildung 7: Eine Messeinrichtung, wie sie in den Versuchen von Kardon (Kardon, Anderson et al. 2009) verwendet wurde. Der Messaufbau ist groß und für Laborversuche angepasst, lässt sich aber umständlich im Feld einsetzen.



Abbildung 8: Eine weitere Messeinrichtung, wie sie in den Versuchen von Lorenz (Lorenz, Strohmayr et al. 2012) verwendet wurde. Auch hier ist der Messaufbau für einen Versuch im Feld ungünstig oder nur für bestimmte Personengruppen geeignet.

4. Hypothese

Im Rahmen dieser Forschungs- und Entwicklungsarbeit ergibt sich folgende Nullhypothese:

H_0 : Mit dem mobilen Messgerät lässt sich kein Unterschied, wie bei Park (Park, Moura et al. 2011) beschrieben, feststellen.

Entsprechend stellt sich die Alternativhypothese wie folgt dar:

H_A : Die veröffentlichten Ergebnisse von Park et al. lassen sich mit dem mobilen Messgerät nachbilden.

Bei Annahme der Alternativhypothese stellt sich zusätzlich die Frage, ab welchem Messzeitpunkt sich der PLR bei einem Stimulus mit rot, beziehungsweise blau, unterscheidet.

Generell gilt die Frage, ob die Sicherheit der Versuchsperson bei Verwendung des Messgerätes gegeben ist.

Da der Nutzen für eine Überprüfung der ipRGCs bei Menschen mit einer Demenz generell davon abhängt, ob mit dem mobilen Messgerät überhaupt ein solcher Unterschied gemessen werden kann, ist die Untersuchung an Menschen mit einer Demenz eher der Hypothesenbildung zuzuordnen.

Kapitel 2 – Material & Methoden

1. Versionshistorie Pupillometriebrille

Die derzeit erhältlichen Geräte und Konstruktionen, wie sie in den vorgestellten Publikationen gezeigt wurden, bieten zwar an den PLR zu messen, sind aber nur stationär, sperrig und oftmals aus anderen ophthalmologischen Geräten zusammengebaut und bestehen somit teilweise aus teuren Komponenten, die eigentlich einem anderen Einsatzzweck dienen. Das hier vorgestellte Messsystem soll die Nachteile der bisherigen Messkonstruktionen reduzieren oder gar ganz eliminieren. Entsprechend ergeben sich folgende Anforderungskriterien an das neue Messsystem:

- kompakt
- transportabel
- benutzerfreundlich
- anwendungsoptimiert

In den folgenden Abschnitten werden das Konzept, sowie der Entwicklungsprozess der Pupillometriemessbrille beschrieben. Des Weiteren werden die Komponenten und deren Aufgabe im Detail dargestellt und bei Bedarf einer Modifizierung von einer Version zur Nächsten im entsprechenden Absatz nochmals in ihrer Änderung erläutert.

1.1 Konzept

Eines der Hauptprobleme der vorhandenen Messgeräte ist ihre Größe und damit die verbundene Immobilität. Entsprechend ist eines der Hauptkriterien die Reduzierung der Größe auf ein handhabbares Niveau. Aus einer ersten Brainstorming-Phase hebt sich neben einem kompakteren Tischgestell und einem helmmontierten Aufsatz die Idee einer brillenähnlichen Vorrichtung ab. Die Vorteile gegenüber anderen Systemen und Ideen sind, wie bereits angestrebt, eine vergleichsweise kompakte Bauweise und dadurch eine höhere Transportabilität. Hinzu kommt jedoch, dass das Brillensystem eine höhere Sicherheit bei der Messung des PLR bietet, da im Vergleich zu einem, zum Beispiel am Tisch, montierten Messsystem, die Messeinrichtung einer möglichen Kopfbewegung folgt und somit das Auge immer

anvisiert. Ein weiterer Vorteil bietet sich bei der Messung von Patienten, die unter Umständen nicht mehr in der Lage sind, sich für die Messung zum Beispiel an einen Tisch zu setzen oder für ein paar Minuten in dieser Position zu verbleiben. Mit der Messbrille ist es möglich eine flexible Anzahl an Positionen, die auch für den Patienten angenehm sind, einzunehmen und dennoch eine Messung durchzuführen.

In einer weiteren Ideenfindung wurde das Konzept der Pupillometriessbrille verstärkt herausgearbeitet und es wurden Überlegungen über mögliche Verfahren und Komponenten angestellt.

Um das Messgerät nicht unnötig schwer und kostenintensiv zu gestalten, soll der konsensuelle PLR gemessen werden. Von einem Auge gehen die Nervenbahnen für den PLR über das Chiasma opticum und trennen sich dabei auf. Die abzweigenden Bahnen führen jeweils zum Nucleus praetectalis im Mittelhirn auf den beiden Gehirnhälften. Dies stellt die Erste von drei möglichen Wegen für eine lichtgesteuerte Konstriktion der Pupille an beiden Augen dar. Die beiden Nuclei sind ihrerseits miteinander verbunden (Weg Zwei). Zuletzt führen von jedem Nucleus praetectalis Fasern zum Nucleus Edinger-Westphal und seinem kontralateralen Pendant auf der anderen Gehirnhälfte. Mit diesen drei Verknüpfungen lässt sich der PLR von einem Auge auf das andere übertragen (Gertz, Liebman et al. 2003, S. 102 f).

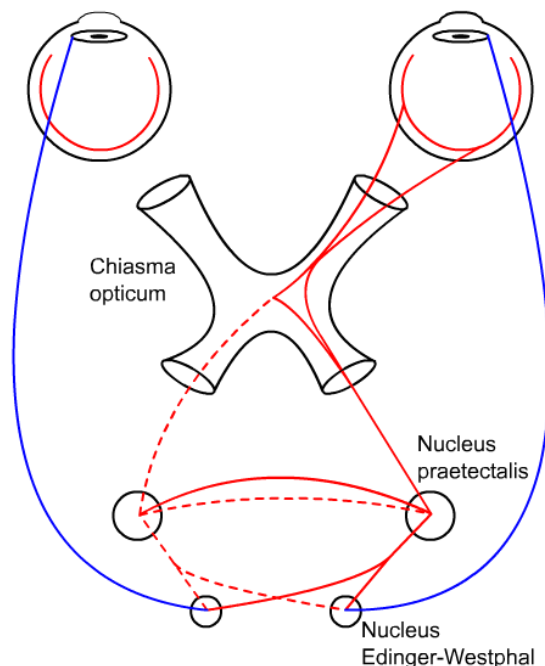


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Reizweiterleitung für den PLR. In Rot die Nervenbahnen von der Retina über das Chiasma opticum zum Nucleus praetectalis, zum Nucleus Edinger-Westphal. In Blau

die Rückführung zur Regulation der Pupille. Die Informationsweiterleitung für das andere Auge ist identisch.

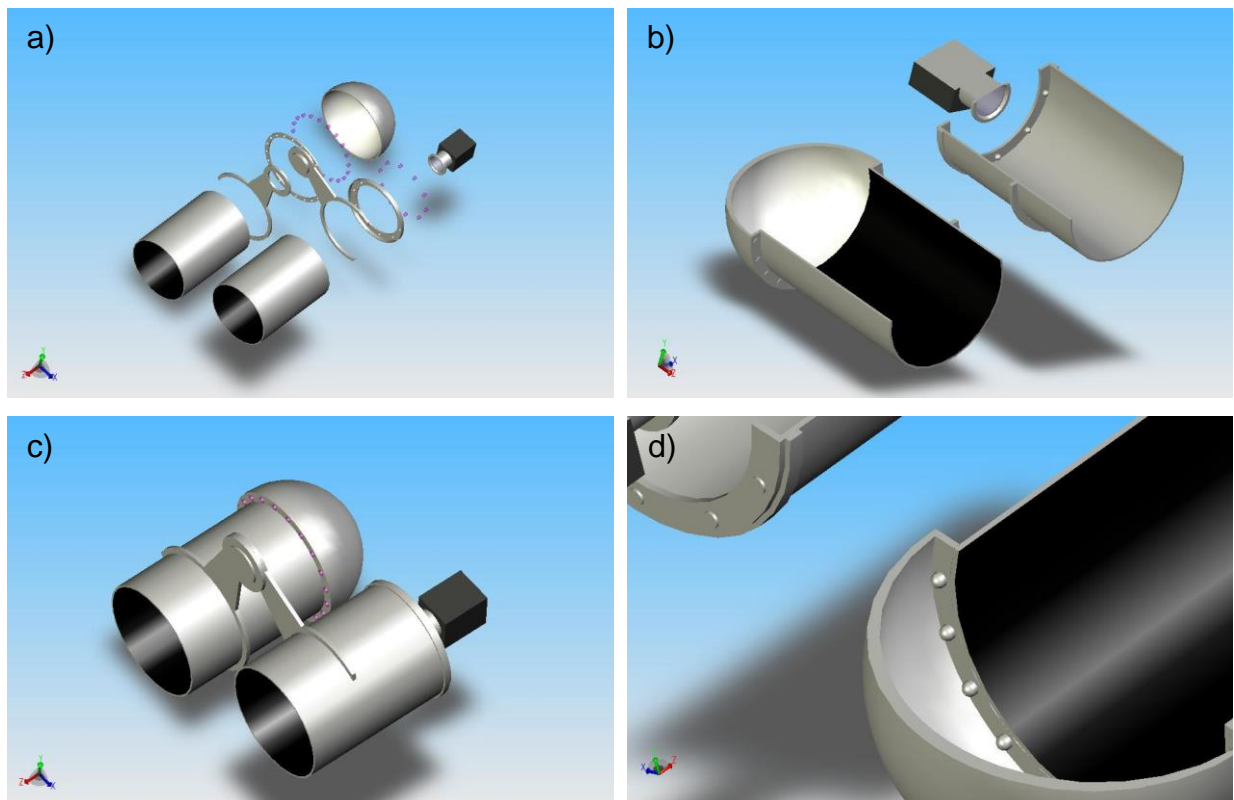


Abbildung 10: Erste Ideenskizzen der Pupillometriemesseinrichtung. a) Explosionsskizze b) Halbschnitt c) Gesamtkonzept zusammengefügt d) Detail im Halbschnitt der Beleuchtungseinheit

1.1.1 Beleuchtungseinheit

Für die Stimulation des PLR ist die Vorgabe, dass das Beleuchtungselement einen großen Bereich des Sehfeldes des Auges einnimmt, um eine möglichst große Fläche der Retina zu beleuchten. Hinzu kommt, dass diese Fläche homogen ausgeleuchtet sein soll. In der Lichttechnik finden Integrationssphären (Ulrbicht-Kugel) unter anderem Verwendung für die Bestimmung der Gesamtleistung eines Leuchtmittels. Das Prinzip einer Integrationssphäre ist, das Licht an der Wand permanent diffus zu streuen. Auf diese Weise wird eine homogene Ausleuchtung der Innenfläche erreicht. Dieses Prinzip wird für die Beleuchtungseinheit verwendet. Eine Halbsphäre mit einer diffus streuenden Innenbeschichtung wird mit einer Lichtquelle, die für die Versuchsperson nicht zu sehen ist, beleuchtet. Eine Anforderung an die Beleuchtungseinheit ist eine homogene Lichtfläche zu erzeugen, die einen großen Raum des Sehfeldes abdeckt. Eine weitere optionale Anforderung an die Beleuchtungseinheit ist eine regelbare Einstellung der Lichtintensität.

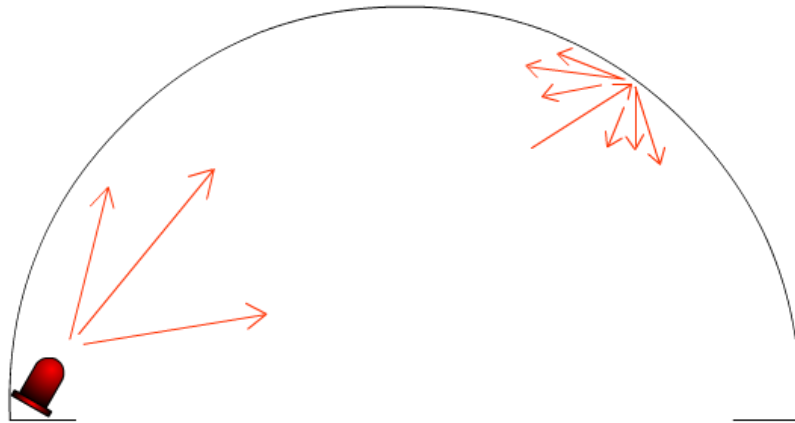


Abbildung 11: Prinzip-Darstellung der Streuung an der beschichteten Innenwand der Halbsphäre.

1.1.2 Kameramodul

Der PLR soll über eine Kamera detektiert und über eine Software in Echtzeit oder anschließend aus einer Videoaufnahme erfasst werden. Das Kameramodul muss das zu messende Auge nicht nur erfassen, gleichzeitig muss es das Auge auch vor Außenlicht abschirmen, da es sonst zu einer ungewollten Reizung des PLR kommen kann. Dies stellt das Kamerasystem vor das Problem, ohne sichtbares Licht arbeiten zu müssen. Deswegen soll ein Kamerasystem verwendet werden, welches IR-sensitiv ist. Da bereits ein kommerziell erhältliches Eye-Tracking-System (iView X der Firma SensoMotoric Instruments GmbH (SMI), Deutschland) vorhanden ist, soll die Vermessung der Pupille unter anderem damit durchgeführt werden.

1.2 Pupillometriebrille Version 1

Im Rahmen einer Abschlussarbeit zur Erlangung des Master of Science (Dickmann 2012) wurde ein erster Versuch unternommen, eine solche mobile Pupillometriemessbrille zu entwickeln. Im Rahmen dieser Promotionsarbeit wurde die betreffende Masterarbeit mit betreut.

Die Version 1 der mobilen Pupillometriemessbrille besitzt als Grundkörper eine Schutzbrille für Schweißarbeiten. Die stabile Rahmenkonstruktion erlaubt es, die benötigten Aufsätze wie Kamera und Lichtquelle zu tragen.



Abbildung 12: Erste experimentale Umsetzung der Pupillometriemessbrille im Rahmen einer Masterarbeit.

Als Leuchtmittel wurden für erste Testzwecke LEDs unterschiedlicher Farbe verwendet, die radial in der Innenseite der Halbsphäre (siehe Kapitel 2 – Material & Methoden → 1.4.1 Beleuchtungseinheit) angebracht werden. Die Farben sind Rot, Grün und Blau mit den jeweiligen Peak-Wellenlängen von 637 nm, 569 nm und 470 nm. Die Ansteuerung erfolgt über einen kommerziellen, programmierbaren RGB-LED-Controller (Typ MS-35, Conrad Electronics SE, Deutschland) und ermöglicht eine Regulierung der Leuchtdichte mittels Pulsweitenmodulation (PWM) in 8 Bit (256 Zustände).

Das Kameramodul enthält eine fix installierte, infrarotsensitive Kamera mit einer maximal möglichen Auflösung von 352x288 px und einer Bildaufnahme rate von 30 fps. Es wird ein analoges Videosignal ausgegeben. Das nicht-stimulierte Auge wird über mehrere IR-LEDs ausgeleuchtet. Die Messung des Pupillendurchmessers erfolgte über das kommerzielle Eye-Tracking System.

Das zum Vergleich verwendete und modifizierte Protokoll zur Reizung des PLR stammt von Kardon et al. (Kardon, Anderson et al. 2009) (vgl. Abbildung 4). In dieser Abschlussarbeit konnte gezeigt werden, dass mit dem angestrebten System ähnliche Ergebnisse erzielt werden konnten.

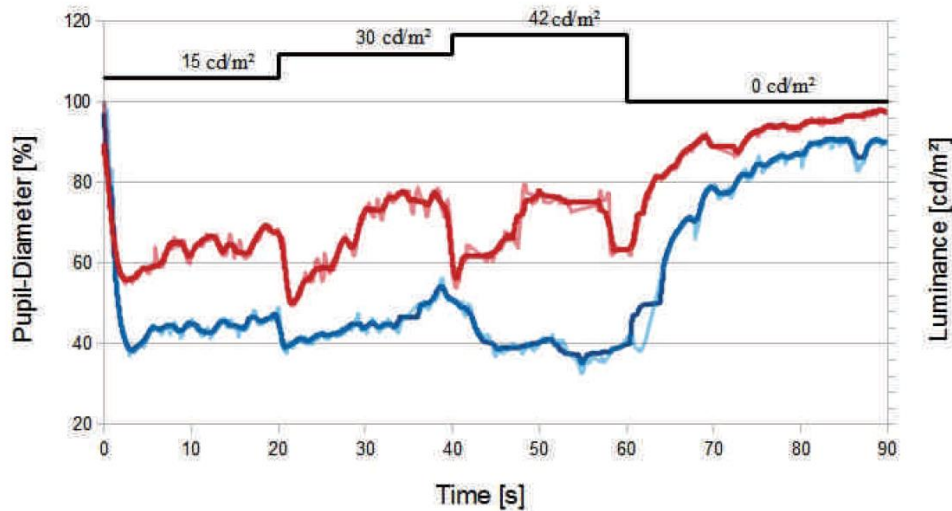


Abbildung 13: Gemessener PLR zwischen rotem und blauem Stimulus bei unterschiedlichen Leuchtdichten bei einem Probanden. Vergleich die Ergebnisse von Kardon Abbildung 4.

1.3 Pupillometriebrille Version 2a

Die Pupillometriemessbrille in Version 2a basiert auf Version 1, besitzt aber einige grundlegende Modifikationen an der Beleuchtungseinheit sowie dem Kameramodul. Gleichzeitig wurde im Rahmen einer Abschlussarbeit zur Erlangung des Bachelor of Engineering (Glasl 2013) die Entwicklung einer neuen Software zur Pupillendetektion mitbetreut.

1.4 Spezifikationen

1.4.1 Beleuchtungseinheit

Für die Reizgabe am Auge wird, wie im Konzept und Version 1, ein halbkugelförmiger Dom verwendet, dessen Innenseite mit einer weißen, matten Sprühfarbe (Dupli-Color platinum Farbcode RAL 9010; Reinweiß) beschichtet wurde, um eine diffuse und homogene Lichtverteilung zu erzielen. Um ein Durchscheinen von Licht von außen zu vermeiden, wurden zusätzlich mehrere Schichten schwarzer Sprühfarbe (Dupli-Color platinum Farbcode RAL 9005; Tiefschwarz) an die Außenseite des Doms aufgetragen. Die Innenfläche der Halbkugel wird, wie in Version 1, durch LEDs ausgeleuchtet. Im Gegensatz zu Version 1 werden in der Version 2a RGB-LEDs verwendet. Der Unterschied liegt diesbezüglich darin, dass auf der gleichen Fläche alle drei Farben (Rot, Grün, Blau) enthalten sind. Dadurch können mehr LEDs radial untergebracht werden, was eine noch homogenere

Lichtverteilung ermöglicht. Des Weiteren erhöht sich der Einstellbereich der Leuchtdichten durch eine höhere Gesamtintensität.



Abbildung 14: Die Beleuchtungseinheit besteht aus einem Dom, dessen Innenfläche matt weiß beschichtet wurde, um eine homogene Beleuchtung zu ermöglichen. Das Beleuchtungsmodul lässt sich mit einer Magnetkupplung am Rahmen der Messbrille befestigen. Sicht auf die Innenseite mit aktiven blauen LEDs.

Die verwendeten RGB-LEDs (LED SMD Bauform PLCC& RGB WERRGB01-C1M, Winger Electronics GmbH & Co.KG, Deutschland, www.led1.de) beinhalten einen Vorwiderstand und sind für eine Versorgungsspannung von 12V ausgelegt. Der Öffnungswinkel, in dem die LEDs abstrahlen, ist mit 120° angegeben. Peakwellenlänge und maximale Lichtstärke sind für Rot 625 nm und 800 mcd, für Grün 525 nm und 1000 mcd und für Blau 470 nm und 400 mcd. Mit einem Radiospektrometer (Spectro-Radiometer specbos 1201, JETI Technische Instrumente GmbH, Deutschland) werden ähnliche Peakwellenlängen ermittelt (Rot 630 nm, Grün 522 nm, Blau 468 nm)

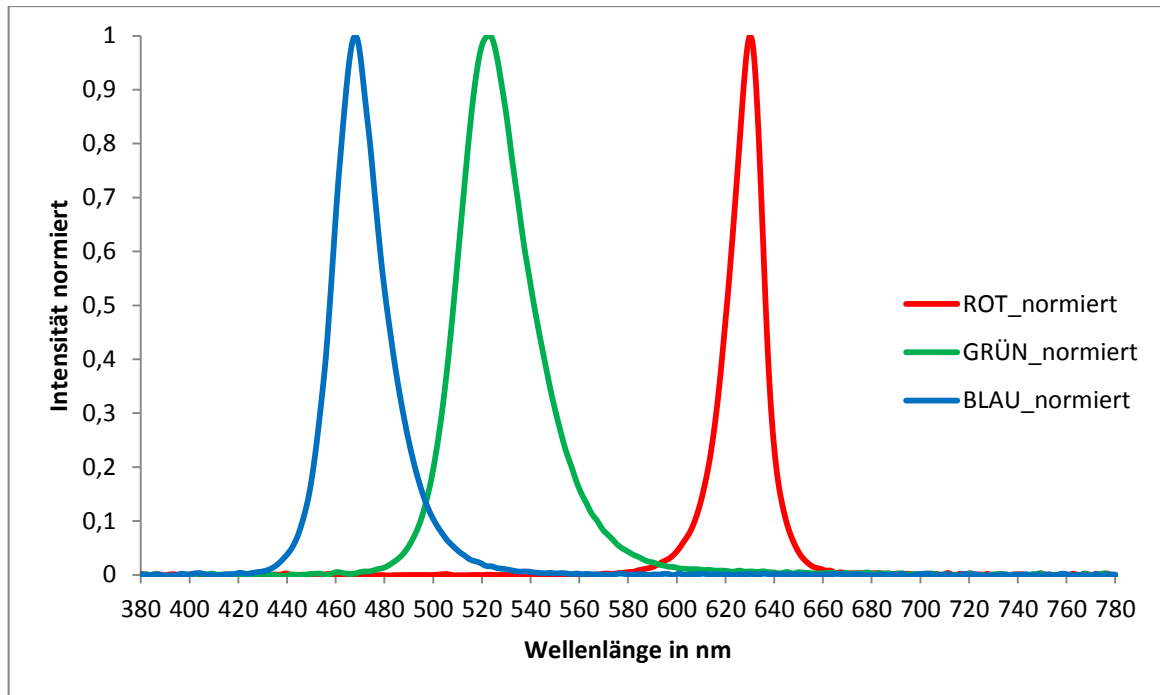


Abbildung 15: Normierte spektrale Verteilung der RGB-LEDs. Peakwellenlängen für Rot 630 nm, Grün 522 nm und Blau 468 nm.

Die Ansteuerung der RGB-LEDs erfolgt ebenfalls über einen RGB-LED-Controller (Typ MS-35, Conrad Electronics SE, Deutschland) (Vergl. Pupillometriebrille Version 1). Durch die Verwendung des RGB-LED-Controllers ist es möglich, die Leistung der RGBs in einem 8 Bit Bereich (256 Zustände), zu regulieren. Dabei stellt der Zustand 255 die maximale Intensität dar, wohingegen der Zustand 0 gleichzusetzen ist mit „Aus“. Auf diese Weise lässt sich auch ein „Fading“, ein langsames Hoch- oder Herunterdimmen der LEDs ermöglichen. Auch hier erfolgt der Dimm-Effekt über PWM. In Abbildung 16 und Abbildung 17 sind jeweils die Leuchtdichte, bzw. Strahldichte in Abhängigkeit der eingestellten digitalen Werte dargestellt. Der Unterschied zwischen den beiden Graphen rührt durch die unterschiedliche Gewichtung der Messkurven her. Die Leuchtdichte stammt aus der Photometrie und ist mit der Sehempfindlichkeitskurve $V(\lambda)$ für das menschliche Auge gewichtet, wohingegen die Strahldichte eine rein radiometrische Größe darstellt und ohne jede Gewichtung angegeben wird.

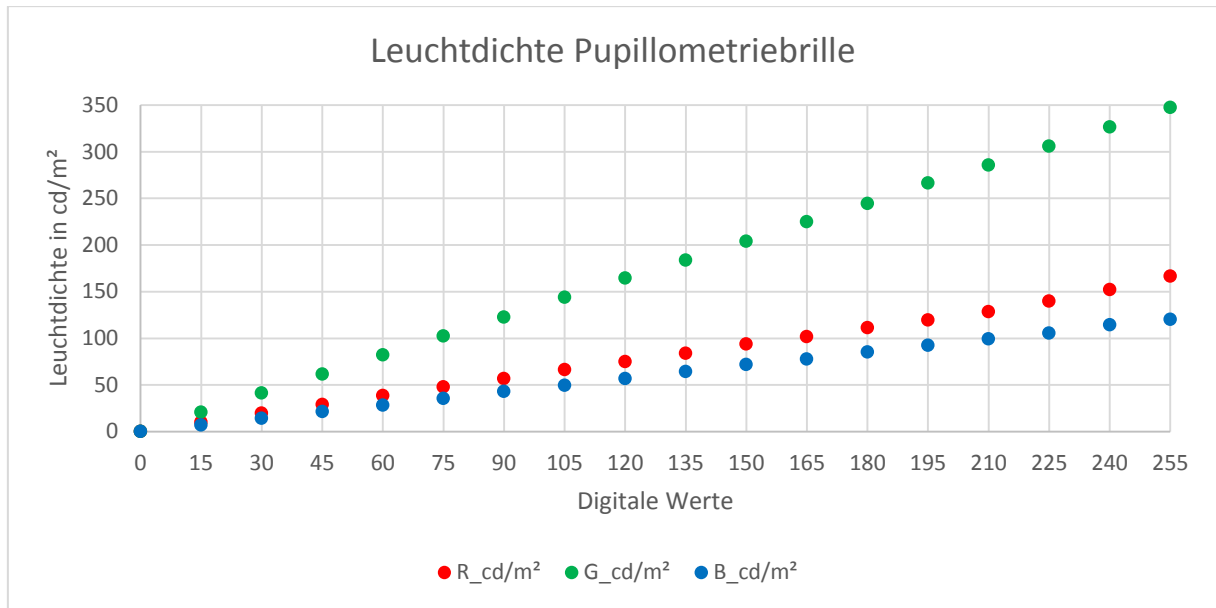


Abbildung 16: Dargestellt ist die gemessene Leuchtdichte in Abhängigkeit der am RGB-Controller einstellbaren digitalen Werte. Aufgrund der Gewichtung nach der $V(\lambda)$ -Kurve für photometrische Messverfahren beträgt die maximal mögliche Leuchtdichte weniger als $125 \text{ cd}/\text{m}^2$.

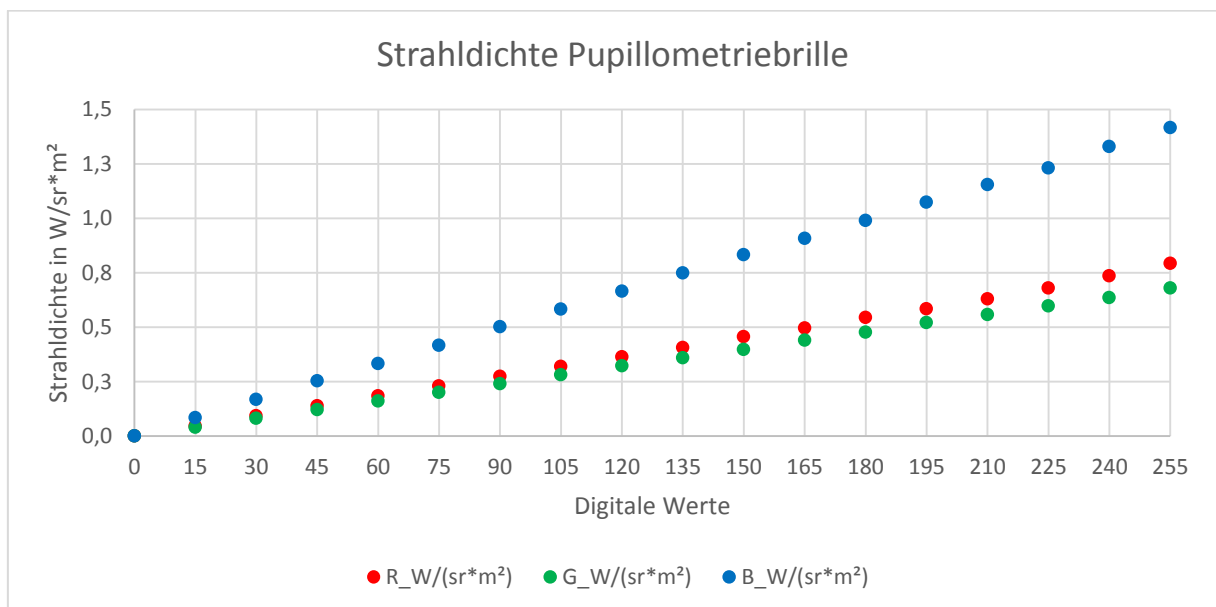


Abbildung 17: Eine energetische Betrachtung der RGB-LEDs zeigt den Unterschied zwischen radiometrischer und photometrischer Bewertung.

1.4.2 Leuchtdichte und Homogenität

Die eingestellte Leuchtdichte beträgt für beide Farben (rot und blau) in beiden Lichtprotokollen jeweils $120 \text{ cd}/(\text{m}^2\text{sr})$ ($2,08 \log \text{ cd}/(\text{m}^2\text{sr})$). Im Vergleich zu Park entspricht dies fast einem Drittel der von ihm verwendeten Leuchtdichte ($2,6 \log \text{ cd}/(\text{m}^2\text{sr})$, etwa $400 \text{ cd}/\text{m}^2\text{sr}$).

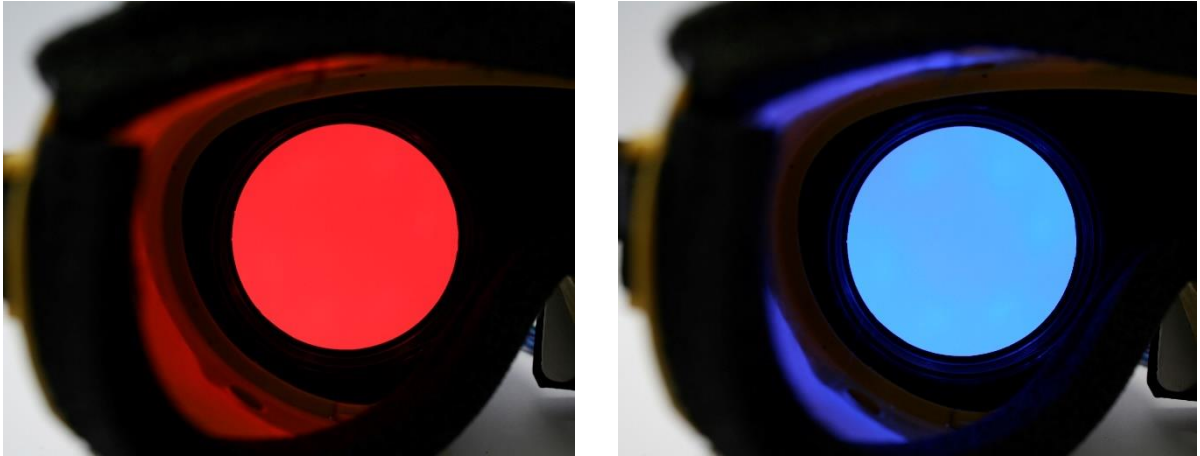


Abbildung 18: Beleuchtungsssequenz mit rotem und blauem Lichtimpuls. In den beiden Bildausschnitten ist eine gleichmäßige Beleuchtung über einen Teil der Innenfläche des Doms zu erkennen.

1.4.3 Lichtprotokoll

Getestet wurden zwei unterschiedliche Lichtprotokolle, die sich in der zeitlichen Dauer, sowie der Länge der applizierten Lichtstimuli unterscheiden.

Lichtprotokoll 1

Dieses Lichtprotokoll besteht aus insgesamt sechs Lichtreizen. Vor Applizierung der Lichtreize startet das Protokoll mit einer 60 Sekunden andauernden Dunkelphase zur Dunkeladaption der Pupille. Jeder Lichtreiz hat eine Dauer von einer Sekunde. Die ersten drei Lichtreize haben eine Peakwellenlänge von 625 nm und befinden sich damit im roten Spektralbereich. Nach jedem roten Lichtreiz folgt eine Dunkelphase von zehn Sekunden bis zum nächsten Lichtreiz. Die zweiten drei Lichtreize haben eine Peakwellenlänge von 470 nm und befinden sich damit im blauen Spektralbereich. Nach jedem blauen Lichtreiz folgt eine 30 Sekunden andauernde Dunkelphase. Dieses Lichtprotokoll wurde mit jungen gesunden Probanden getestet.

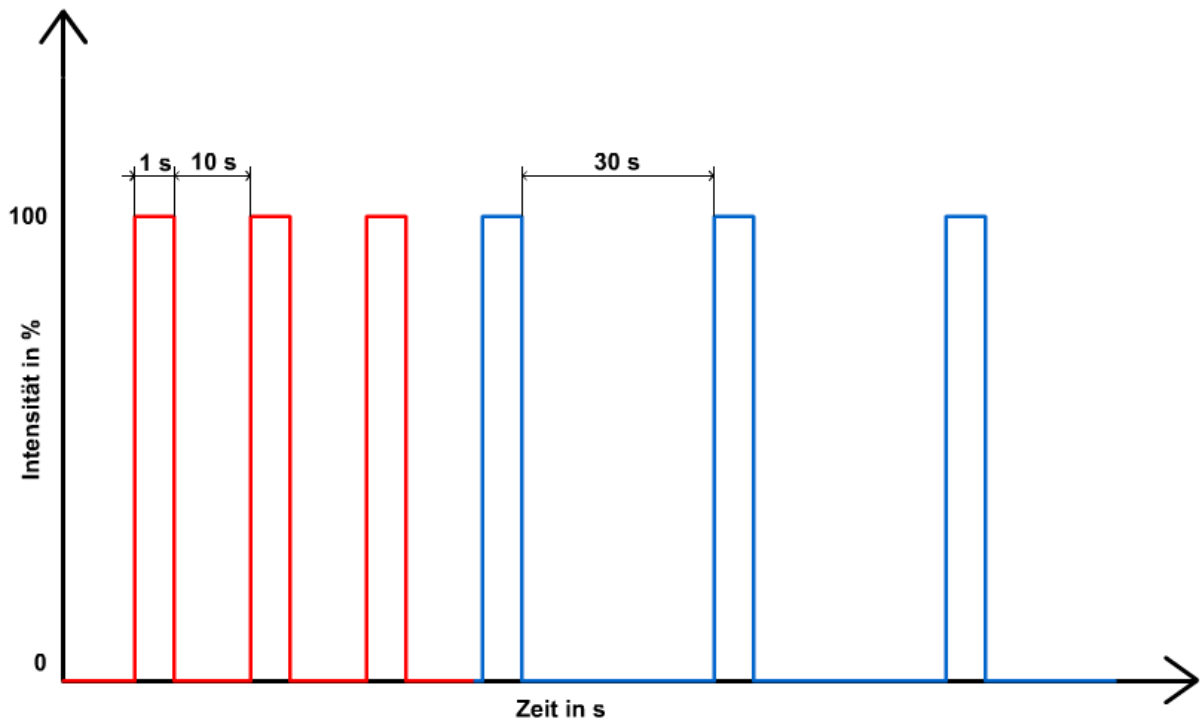


Abbildung 19: Lichtprotokoll 1. Eine Sequenz zur Bestimmung des PLR. Insgesamt sechs Pulse mit einer Länge von je 1 s. Die Dauer zum nächsten Puls nach einem roten Puls beträgt jeweils 10 s. Die Dauer zum nächsten Puls nach einem blauen Puls beträgt jeweils 30 s.

Lichtprotokoll 2

An Patienten aus den Demenzzpflegeheimen wurde ein abgeändertes Lichtprotokoll mit einer ansteigenden Flanke getestet. Durch die ansteigende Intensität soll eine akute Blendung unterbunden werden. Wie in Lichtprotokoll 1 startet die Sequenz mit einer 60 Sekunden dauernden Dunkelphase für die Dunkeladaption der Pupille. Die Lichtreize wurden alternierend (rot und blau) in jeweils fünf Wiederholungen appliziert. Die Phase des Anstiegs beträgt zehn Sekunden und fährt von Null auf 100%. Der Lichtreiz (Peakwellenlängen 470 nm (blau) bzw. 625 nm (rot)) wird nach dem Anstieg für eine Sekunde auf voller Intensität gehalten und dann sofort abgeschaltet. Nach jedem Lichtreiz folgt eine Dunkelphase von 30 Sekunden, bevor der nächste Reiz appliziert wird.

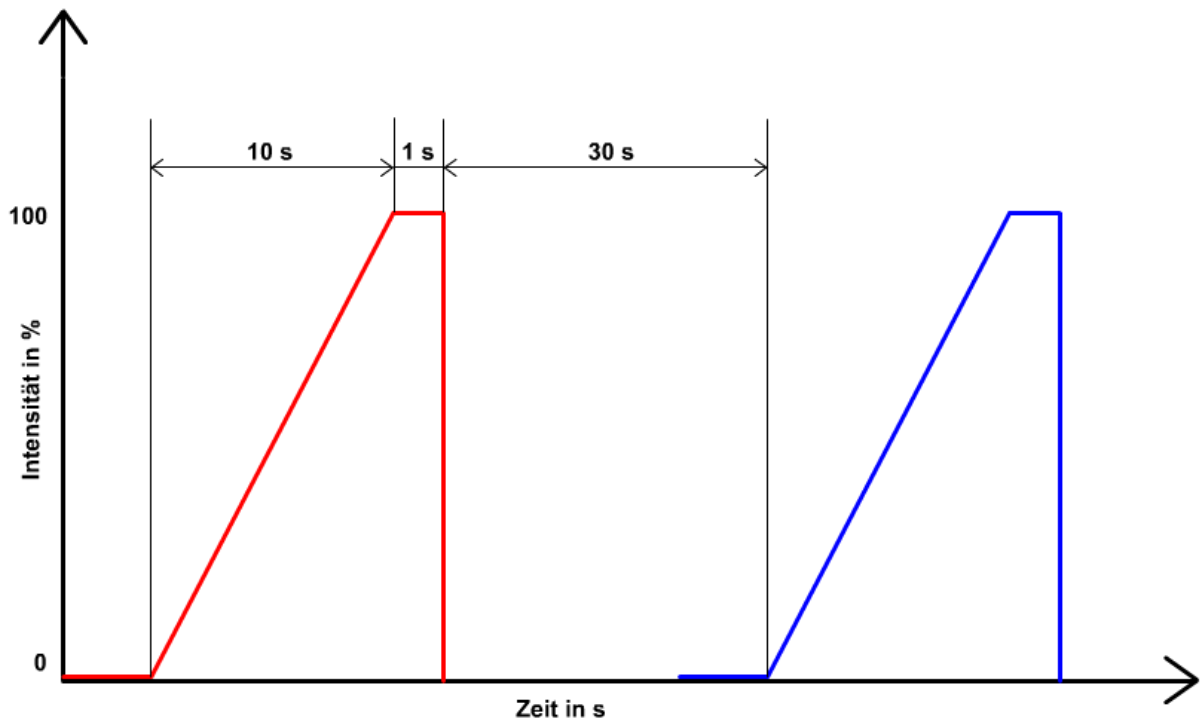


Abbildung 20: Lichtprotokoll 2. In der Grafik dargestellt ist ein sich insgesamt fünfmal wiederholender Abschnitt von zwei alternierenden Lichtreizen (rot und blau). Die jeweils ansteigende Flanke (Dauer 10 s), soll eine akute Blendung vermeiden. Gehalten wird der Lichtreiz bei voller Intensität jeweils für eine Sekunde. Zwischen den Lichtreizen besteht eine 30 s andauernde Dunkelphase.

1.4.4 Kameramodul

Das Kameramodul besteht aus einer infrarot-sensitiven Kamera, die auf einem Kunststoffschlitten montiert ist und in vertikaler und horizontaler Richtung verschoben werden kann, um das Auge aufgrund unterschiedlicher Kopfgeometrien optimal aufzuzeichnen. Die Ausleuchtung erfolgt über vier IR-LEDs, die links und rechts vom Kameraobjektiv montiert sind.



Abbildung 21: Kameramodul - das Kameramodul lässt sich über eine Magnetkupplung am Rahmen der Messbrille befestigen. Die Kamera lässt sich über einen Kunststoffschlitten in x- und y-Richtung

verschieben um sich an die jeweilige Kopfgeometrie anzupassen. Oberhalb des Kameraobjektivs ist eine IR-LED zur Beleuchtung angebracht, die sich mit bewegt.

Sowohl die Beleuchtungseinheit, als auch das Kameramodul lassen sich über eine Magnetkupplung bei Bedarf oder Defekt gegen andere Module austauschen.

1.4.5 Software

iView X

Die verwendete Software zur Messung des Pupillendurchmessers ist, wie erwähnt, ein kommerziell erhältliches Eye-Tracking-System (iView X der Firma SensoMotoric Instruments GmbH (SMI), Deutschland). Die primär für die Bestimmung der Blickrichtung gedachte Software ermöglicht es, auch den Pupillendurchmesser zu detektieren und auszugeben. Das Videobild wird dabei mit 50 Hz abgetastet und darin die Pupille erkannt.

LabPuDetect

Die im Rahmen einer Bachelorarbeit (Glasl 2013) entwickelte Pupillendetektionssoftware *LabPuDetect* wurde in *LabView 2012* (National Instruments Corporation, Austin, Texas, USA) erstellt. Das Programm erkennt die Pupille und misst den Pupillendurchmesser anhand von 36 Messpunkten. Das Programm ist ebenfalls in der Lage, eine teilweise verdeckte Pupille noch zu erkennen und aus den vorhandenen Messdaten einen Kreis zu interpolieren. Die Abtastrate ist dabei an das Videosignal angepasst.

1.5 Pupillometriebrille Version 2b

Die Pupillometriemessbrille in Version 2b hat nur geringfügige Änderungen erfahren. Diese betreffen die Positionierung der IR-LEDs für die Beleuchtung des Auges zur Erfassung und Messung des Pupillendurchmessers, sowie ergonomische Veränderungen. Waren zuvor vier IR-LEDs links und rechts des Kameraobjektivs angebracht, so wurde diese Anzahl auf eine IR-LED reduziert. Die Position der IR-LED ist unterhalb des Kameraobjektivs. Die Ausleuchtung des Auges durch eine einzelne IR-LED ist ausreichend und es kommt nur zu einem einzigen Lichtreflex im Zentrum der Pupille. Dies hat den Vorteil, dass bei einer starken Kontraktion der Pupille deren Kanten nicht durch die Lichtreflexe überdeckt und die Detektion

dadurch erschwert wird. Der Rand des Brillengestells wurde mit einem Weichgummi erweitert, um den Tragekomfort des Messsystems zu erhöhen.



Abbildung 22: (links) Pupillometriessbrille Version 2b mit montiertem Kameramodul und Beleuchtungseinheit von vorne. (rechts) Rückansicht der Pupillometriessbrille mit angeschlossenem RGB-Controller und aktiver blauer Beleuchtung.

1.6 Beurteilung gesundheitsgefährdender Risiken

1.6.1 Epilepsie

Da es in der Versuchsdurchführung zu sich wiederholenden Lichtreizen kommt, stellt sich die Frage nach der Gefährdung für einen epileptischen Anfall. Zuerst muss darauf aufmerksam gemacht werden, dass der generalisierte Begriff „Epilepsie“ mehrere Formen der Epilepsie beherbergt. So geben nur in seltenen Fällen sensorische Reize Anstoß zu einem epileptischen Anfall. So führt zum Beispiel nur die Form der photogenen Epilepsie zu einem Anfall aufgrund schnell wiederholter Lichtreize. Beispielsweise gibt es auch die audiogene/musikogene Epilepsie, die bei akustischen Signalen einen Anfall auslösen kann (Poeck and Hacke 2006). Hinzu kommt, dass mit zunehmendem Alter die Häufigkeit eines Anfalls durch einen Lichtreiz drastisch abnimmt (Shiraishi, Fujiwara et al. 2001). Es muss auch darauf aufmerksam gemacht werden, dass zur Provokation eines epileptischen Anfalls eine regelmäßige, schnelle Reizgabe von ≥ 3 Hz nötig ist (Harding, Wilkins et al. 2005). Die gegebenen Lichtreize in Lichtprotokoll 1 (Abbildung 19) liegen mit einem Abstand von $\leq 0,1$ Hz weit unter der Provokationsfrequenz. Durch den langsamen Anstieg wie in Lichtprotokoll 2 (Abbildung 20) ist ein zusätzlicher Sicherheitsfaktor gegeben. Zusätzlich werden Probanden mit einer belasteten Vorgeschichte an der Teilnahme

der Studie ausgeschlossen. Dahingehend ist das Risiko für einen epileptischen Anfall als vernachlässigbar einzustufen.

1.6.2 Blaulichtgefährdung - Blue Light Hazard (BLH)

Die Bewertung der Lichtquelle nach DIN IEC/TR 62778 (DIN SPEC 42778) „Anwendung von IEC 62471 zur Beurteilung der Blaulichtgefahr von Lichtquellen und Leuchten“ und BGI 5006 „Expositionsgrenzwerte für künstliche optische Strahlung“ ergab keine Gefährdung für Versuchsteilnehmer durch die in der Versuchsanordnung verwendeten kurzwelligen (blau) Lichtstimuli. Nach BGI 5006 (3.6.2) ergibt sich für die maximal zulässige effektive Strahldichte

$$t \leq 10.000 \text{ s} \rightarrow L_{B[GW]} = \frac{1 \cdot 10^6}{t} * \frac{W}{m^2 \cdot sr} \quad (1)$$

$$t \leq 10.000 \text{ s} \rightarrow L_{B[GW]} = 100 * \frac{W}{m^2 \cdot sr} \quad (2)$$

ein Grenzwert von 100 W/(m²*sr). Die gemessene Strahldichte L der Pupillometriebrille beträgt 1,42 W/(m²*sr). Die blaulichtgewichtete Strahldichte L_B hat einen Wert von 0,83 W/(m²*sr). Die maximal zulässige Dauer, die bei dieser Strahldichte einen gefahrungsfreien Blick auf die Lichtquelle gestattet, liegt bei >1,2 Millionen s (~14 d) und damit weit über den geforderten 10.000 s. Somit ist nicht von einem Schaden durch den Blauanteil der Pupillometriebrille (BLH) auszugehen.

2. Ethik

Die Untersuchungen unterlagen den Grundsätzen der aktuellen Deklaration von Helsinki.

Die Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München wurde über das Forschungsvorhaben informiert und hat ihre Zustimmung für die Durchführung der Tests zur Validierung des Messsystems gegeben.

Zur Erprobung des Systems wurden Personen unterschiedlichen Alters gefragt, an diesem Versuch teilzunehmen. Die Teilnehmer wurden über den Versuch und die Absicht aufgeklärt und haben ihr schriftliches Einverständnis gegeben, an diesem Versuch teilzunehmen.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung wurde bei Pflegeheimen mit der Spezialisierung auf Bewohner mit einer Demenz angefragt, Messungen durchzuführen. Die Leitung der Pflegeheime, sowie die gesetzlich bevollmächtigten Vertreter, aber auch die betroffenen Bewohner wurden im Vorfeld über den Versuch und die Durchführung aufgeklärt. Die Bewohner mit einer Demenz wurden unmittelbar vor der Durchführung des Versuchs nochmals über den Ablauf aufgeklärt. Bei Anzeichen von Unbehagen oder Ablehnung wurde der Versuch sofort abgebrochen. Zum Zeitpunkt einer Messung war immer eine vertraute Pflegekraft oder ein Angehöriger anwesend.

3. Probanden

Die Probanden setzen sich aus zwei unterschiedlichen Populationsgruppen zusammen, Populationsgruppe 1 mit gesunden Erwachsenen und Populationsgruppe 2 mit Menschen mit einer Demenz.

3.1 Populationsgruppe 1 – gesunde Erwachsene

Versuchspersonen wurden in die Untersuchung aufgenommen, wenn sie gegen keines der aufgeführten Ausschlusskriterien verstießen.

Die Ausschlusskriterien für die Untersuchung waren:

- Augenerkrankungen (z.B. Makuladegeneration, grüner und grauer Star, diabetische Retinopathie)
- Polymedikation (Einnahme mehrerer Medikamente)
- Heuschnupfen oder Einnahme von Medikamenten gegen Heuschnupfen (aktuell)
- Bewusstseinsstörungen
- Chronisch infektiöse Erkrankungen, wie z.B.:
 - Hepatitis
 - HIV / AIDS
- Bestehende Abhängigkeitserkrankungen (Alkohol, Drogen)
- Neurologische oder psychiatrische Erkrankungen
- Jet Lag bedingt durch Reisen (Flüge innerhalb des letzten Monats vor der Testung mit Zeitzonenübertritt)

- Aktuell in Schichtarbeit oder innerhalb der letzten drei Monate in Schichtarbeit gearbeitet
- Vorhandene oder frühere Epilepsie

Insgesamt wurden die Ergebnisse von 24 Person im Alter zwischen 21 bis 58 (MW 30,0 SD 12,0) für die Beurteilung des Messsystems untersucht. Davon waren 11 weibliche (Alter: 21 bis 58 (MW 27,1 SD 10,1)) und 13 männliche (Alter: 21 bis 52 (MW 29,5 SD 8,2)) Teilnehmer. Jeder Proband wurde mit jeder Lichtfarbe jeweils dreimal gemessen. Zwei Versuchsteilnehmer wurden im Nachhinein aus der Auswertung der Ergebnisse aufgrund des fortgeschrittenen Alters (70 Jahre) und eine jüngere Versuchsperson wegen einer Stoffwechselerkrankung ausgeschlossen. Die Messergebnisse werden jedoch im Ergebnis- und Diskussionsteil dieser Arbeit ebenfalls gezeigt und diskutiert.

3.2 Populationsgruppe 2- Demenzpatienten

Die Untersuchungen der Patienten mit einer Demenz unterlagen nachfolgenden Kriterien. Die Leitung in den Pflegeheimen übernahm eine Vorauswahl der Bewohner. Die Kriterien für die Wahl der Bewohner richteten sich einerseits nach von uns vorgegebenen Ausschlusskriterien, andererseits nach einer Einschätzung des Pflegepersonals, welche der Bewohner bei solch einem Versuch teilnehmen würden. Ausschlusskriterien waren:

- Augenerkrankungen (z.B. Makuladegeneration, grüner und grauer Star, diabetische Retinopathie)
- Heuschnupfen oder Einnahme von Medikamenten gegen Heuschnupfen (aktuell)
- Bewusstseinsstörungen
- Chronisch infektiöse Erkrankungen, wie z.B.: Hepatitis, HIV / AIDS
- Bestehende Abhängigkeitserkrankungen (Alkohol, Drogen)
- Neurologische oder psychiatrische Erkrankungen (gilt nicht für Versuchsteilnehmer mit einer Demenz)
- Jet Lag bedingt durch Reisen (Flüge innerhalb des letzten Monats vor der Testung mit Zeitzoneübertritt)

- Aktuell in Schichtarbeit oder innerhalb der letzten drei Monate in Schichtarbeit gearbeitet
- Vorhandene oder frühere Epilepsie

Insgesamt untersucht wurden 34 von 35 angedachten im Alter von 60 bis 99 Jahren (MW 84,2, SD 8,8; Weiblich: N = 23, 60 bis 99 Jahre, MW 85,0, SD 8,4; Männlich: N = 8, 65 bis 95 Jahre, MW 81,9, SD 9,4) Bewohnern aus zwei Pflegeheimen (Wien, Österreich). Die Bewohner nahmen bereitwillig an dieser Studie teil. Lediglich ein Bewohner verweigerte die Teilnahme noch vor Beginn der Testung. Die Teilnehmer waren soweit mobil, dass sie selbständig, mit Gehhilfe oder im Rollstuhl in den Pflegeheimen unterwegs waren. Die Art, sowie der Grad der Demenz waren in dieser Untersuchung nicht bei allen Bewohnern bekannt oder genauer bestimmbar. Von den 34 Testungen konnten im Nachhinein nur acht Messungen verwertet werden. Eine genauere Erklärung findet sich im entsprechenden Abschnitt in der Diskussion.

4. Messdaten

Die Messdaten wurden für beide Populationsgruppen jeweils im Nachhinein ausgewertet. Aufgrund unterschiedlicher Aufnahmegeräte variiert die Auswertung geringfügig. Im entsprechenden Abschnitt sind die Unterschiede hervorgehoben.

4.1 Populationsgruppe 1 – gesunde Erwachsene

Die Messdaten dieser Testgruppe wurden mit dem Eyetracking-System iView aufgenommen.

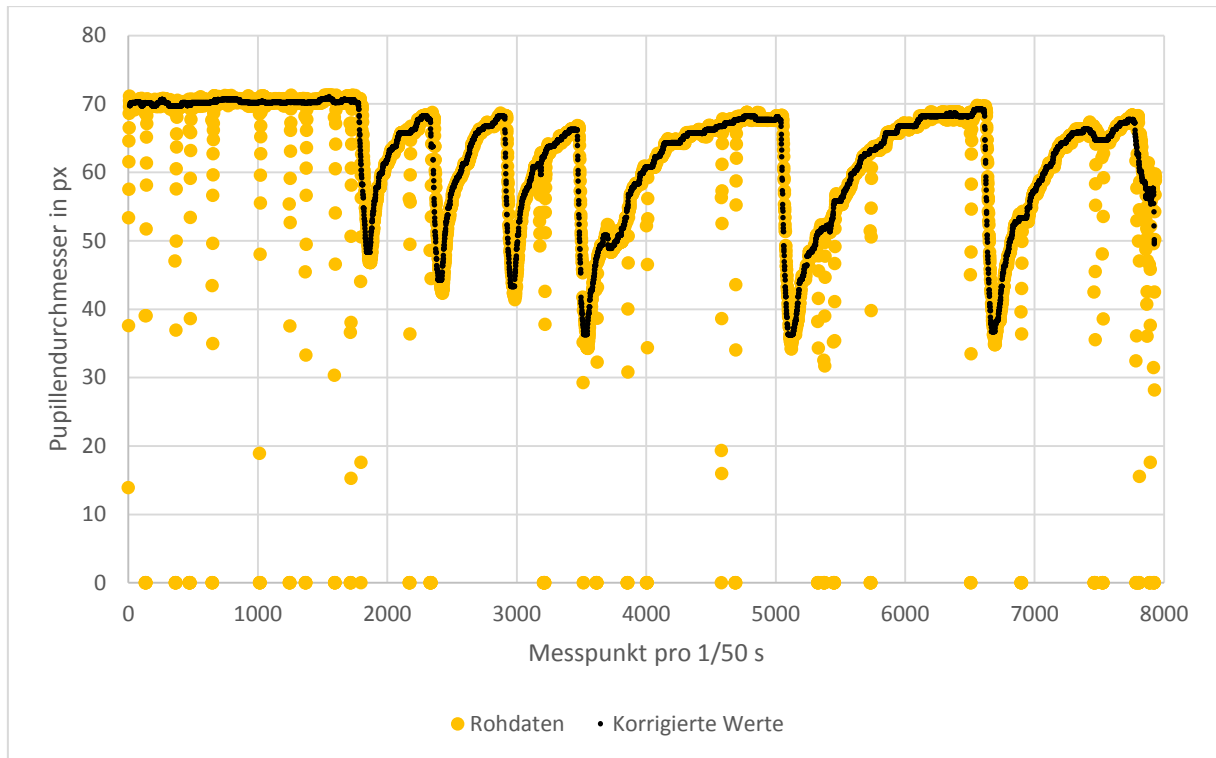


Abbildung 23: Proband 5. Zu sehen ist die Darstellung der zusammenhängenden Rohdaten (orange) und der bereits interpolierten und median gefilterten Messwerte (rot). Die Artefakte entstehen beim Blinzeln oder bei einer Falscherkennung, zum Beispiel des äußeren Irisrandes. Letzteres tritt jedoch selten auf.

Die folgenden Arbeitsschritte wurden mit Excel 2013 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) durchgeführt. In einem ersten Arbeitsschritt wurden anhand eines Diagramms der Rohdaten die Ober- und Untergrenze für den Dynamikbereich der Pupille festgelegt, um eventuelle extreme Ausreißer zu eliminieren. In einem zweiten Arbeitsgang wurden eventuell entstandene Lücken interpoliert. Diese Daten wurden dann mit einem Medianfilter bereinigt, um kleinere Artefakte zu entfernen. Wahlweise kann zwischen einem Medianfilter über 19 oder 51 Messzeitpunkte gewählt werden. Die Wahl des passenden Filters erfolgt ebenfalls visuell anhand einer automatisch neu generierten Datenkurve in einem Diagramm. Nach der Bearbeitung mit dem Medianfilter wurden die Kurven manuell anhand des Zeitpunktes für den Start der Konstriktion überlagert, anschließend normiert und für die statistische Auswertung vorbereitet.

4.2 Populationsgruppe 2 – Demenzpatienten

Die Messdaten dieser Testgruppe wurden mit einem USB-Videograbber (CSL – USB 2.0 Audio/Video Grabber, CSL-Computer) aufgenommen. Der USB-Videograbber wandelt ein analoges in ein digitales Videosignal um und ermöglicht so die digitale

Videospeicherung. Das Video wurde mit einer Xvid-Comprimierung im NTSC-Format aufgenommen. Der Pupillendurchmesser wurde anschließend aus dem Video mit LabPuDetect ausgewertet. Die weitere Verarbeitung der gemessenen Pupillendurchmesser erfolgt wie bei Populationsgruppe 1 über Excel und ist in den Verarbeitungsschritten äquivalent.

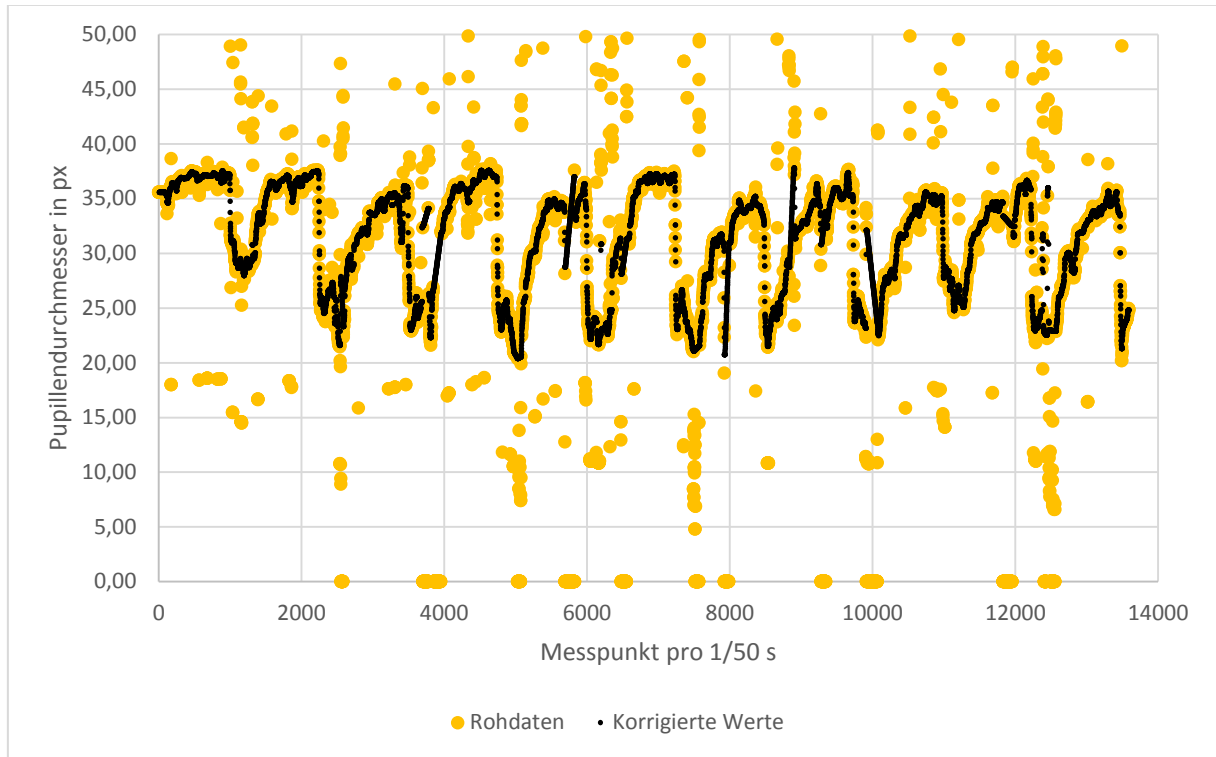


Abbildung 24: Proband 21_1. Dargestellt sind die Rohdaten (orange) gegenüber den interpolierten und mediangefilterten Messwerten (rot) eines Demenzpatienten. Die Artefaktdichte liegt hier im Vergleich zu den gesunden Probanden deutlich höher und beschränkt sich nicht nur auf Artefakte durch Blinzeln, sondern auch auf Falscherkennung durch das Zusammenkneifen von Augen und Schattenbildung, was dann als ausreichender Kontrastunterschied und annähernder Kreis beziehungsweise Ellipse erkannt wird. Problematisch sind auch zumeist altersbedingte herabhängende Augenlider, die die Pupille teilweise verdecken.

5. Statistische Beurteilung

Für die statistische Auswertung wurde das Programm *IBM SPSS Statistics Version 22 (Version 22.0.0.0; 64 Bit, Windows 8.1)* verwendet. In der Auswertung wurden die Messwerte über alle Messzeitpunkte für beide Lichtszenarien zunächst auf Normalverteilung hin überprüft. Die Überprüfung erfolgte über den *Kolmogorov-Smirnow* und *Shapiro-Wilk Test*. Ausgehend von den Ergebnissen für diese beiden Testverfahren ist für Populationsgruppe Eins, als auch die Einzelbewertungen in Populationsgruppe Zwei, nicht von einer Normalverteilung der Messergebnisse über den gesamten Messzeitraum auszugehen. Zur Beurteilung der statistischen

Verteilung wird deswegen mit einem nicht-parametrischen Testverfahren weiter gerechnet. Zum Vergleich der Messwerte bei unterschiedlichen Messzeitpunkten für beide Lichtszenarien wurde ein *Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben* gerechnet. Zur Bestimmung der Effektstärke wurde *Cohen's d* (Cohen 1988, S. 273 ff, Hilgers, Bauer et al. 2007, S. 219 f) für jeden Messzeitpunkt berechnet und daraus für Populationsgruppe eins mit Hilfe des Programms *G*Power, Universität Düsseldorf (Version 3.1.9.2, Windows 8.1)*, die Teststärke post-hoc für drei spezifische Effektstärken bestimmt (Prajapati, Dunne et al. 2010).

Kapitel 3 – Ergebnisse

1. Ergebnisse und statistische Bewertung von Populationsgruppe 1

1.1 Verhalten der Pupille gegenüber unterschiedlichen Lichtreizen

1.1.1 Pupillenverhalten der Testgruppe

Die Nachfolgenden zwei Graphen zeigen jeweils die Messungen des Pupillenverhaltens für rote und blaue Lichtstimuli von zwei einzelnen Probanden. Die gezeigten Kurven sind normiert dargestellt. In beiden Diagrammen ist zu erkennen, dass nach Aussetzen des Lichtreizes die Pupille nach einem roten Lichtstimulus schneller wieder versucht zu dilatieren, wohingegen die Ausdehnung der Pupille nach einem blauen Lichtstimulus verzögert stattfindet.

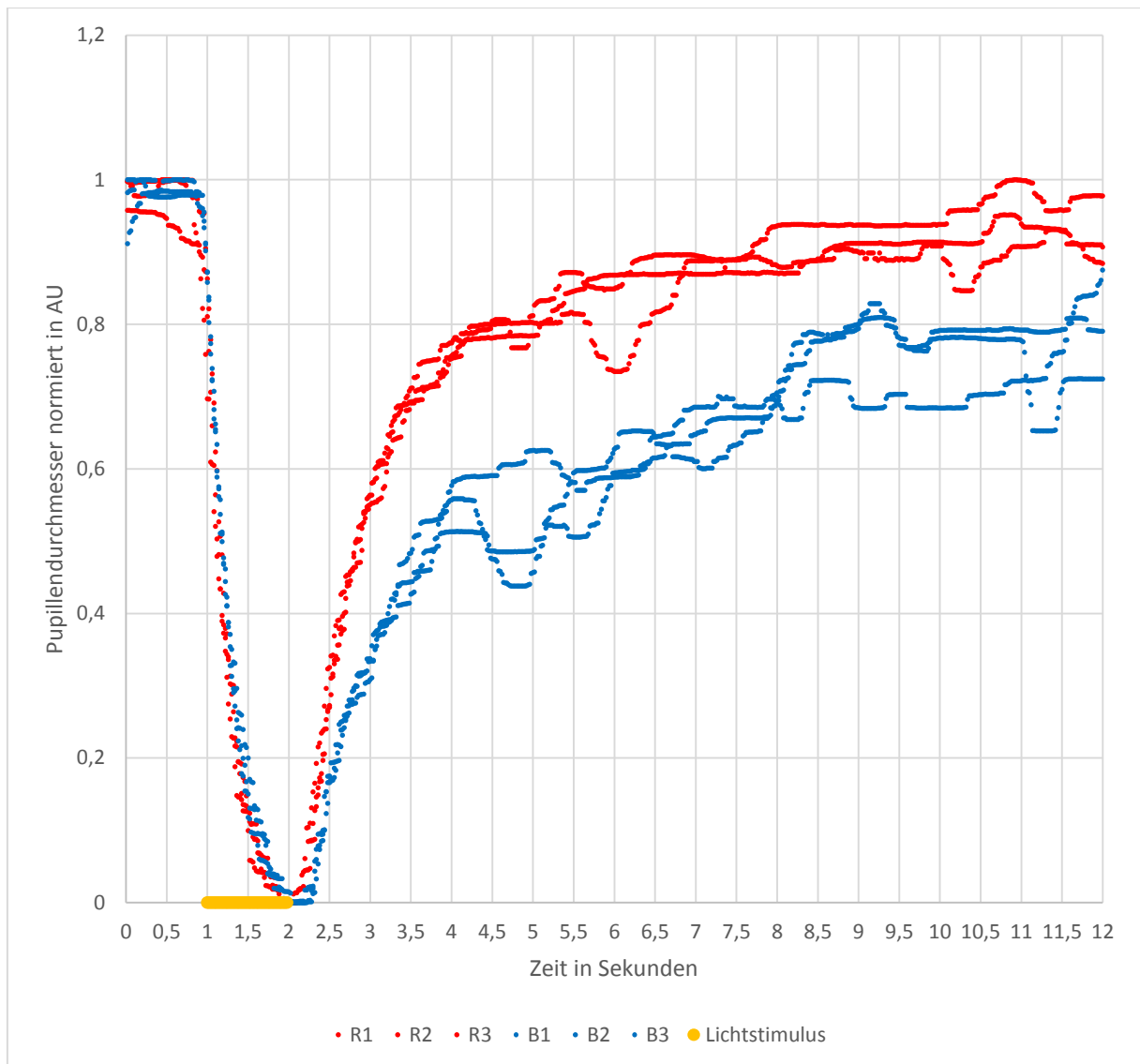


Abbildung 25: Der hier abgebildete Versuchsteilnehmer ist männlich, 23 Jahre alt und Brillen- bzw. Kontaktlinsenträger. Es liegen nach eigenen Angaben keine Augenerkrankungen vor. Nach Aussetzen des Lichtreizes driftet das Pupillenverhalten für rote (R1 bis R3) und blaue (B1 bis B3) Lichtstimuli deutlich sichtbar auseinander. Der Pupillendurchmesser nähert sich langsamer dem Ausgangszustand der Pupille an.

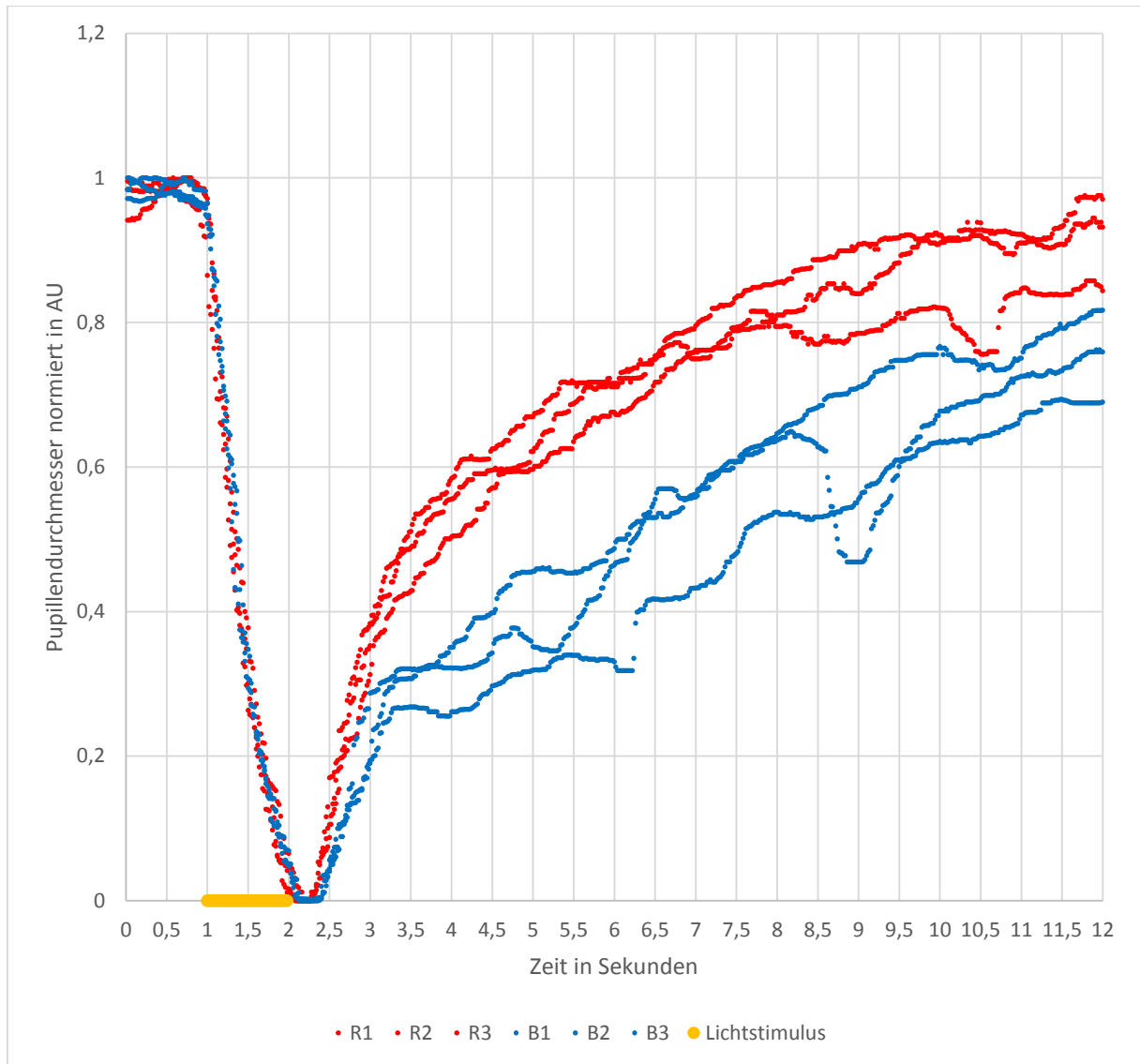


Abbildung 26: Der hier abgebildete Versuchsteilnehmer ist männlich, 33 Jahre alt und kein Brillen- oder Kontaktlinsenträger. Es liegen nach eigenen Angaben keine Augenerkrankungen vor. Nach aussetzen des Lichtreizes driftet das Pupillenverhalten für rote (R1 bis R3) und blaue (B1 bis B3) Lichtstimuli deutlich sichtbar auseinander. Der Pupillendurchmesser nähert sich langsamer dem Ausgangszustand der Pupille an.

In Abbildung 27 sind die normierten Mittelwert des Pupillenverhaltens bei unterschiedlichen Lichtstimuli über alle 24 Testpersonen abgebildet. Wie bei den einzelnen Probanden, sieht man auch hier deutlich, wie sich das Pupillenverhalten für die unterschiedlichen Lichtstimuli unterscheidet und sich der Pupillendurchmesser erst nach längerer Zeit wieder aneinander annähert.

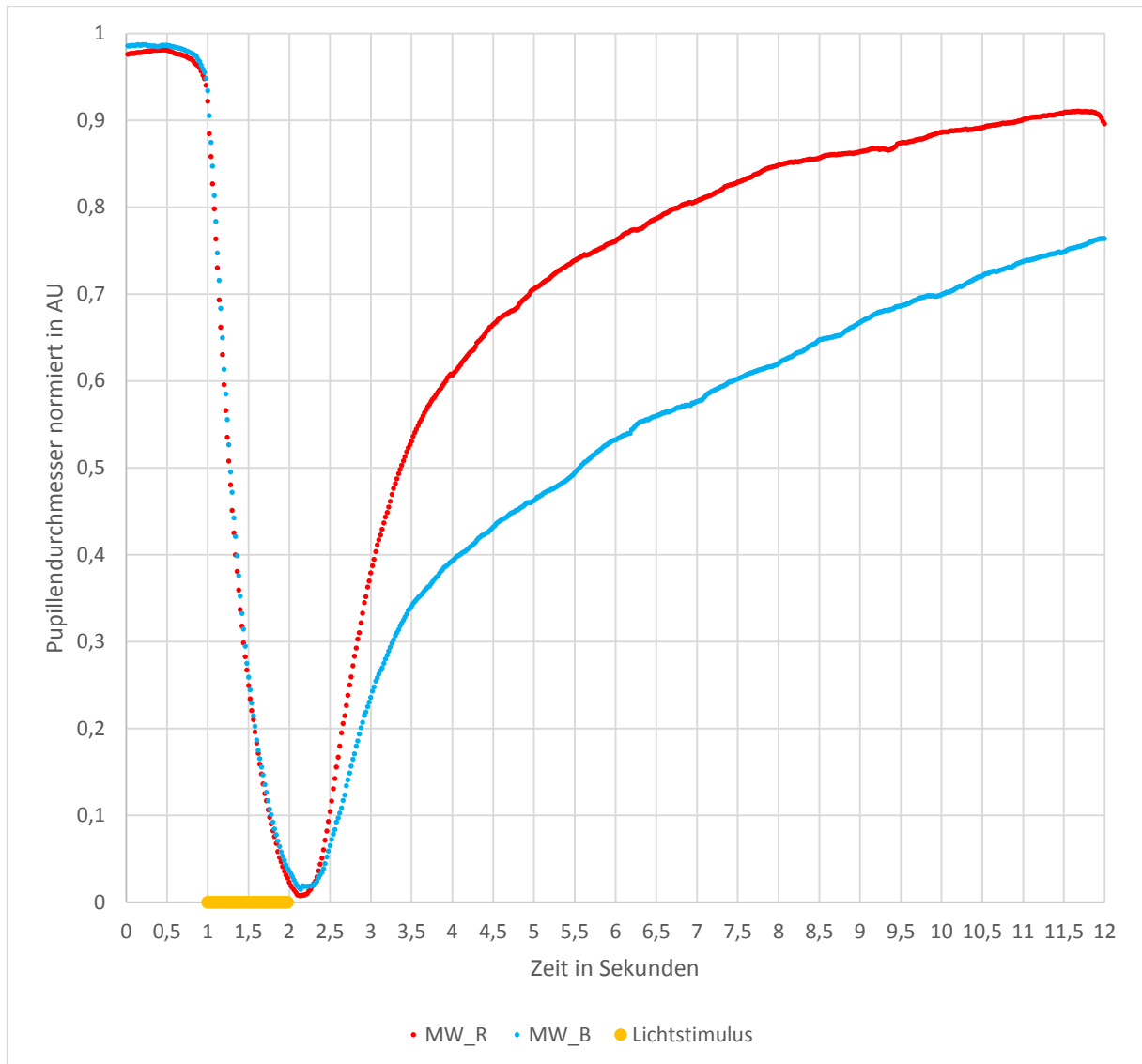


Abbildung 27: Dargestellt sind die Mittelwerte für die zwei Lichtstimuli rot (MW_R) und blau (MW_B) über alle 24 Probanden. Zu erkennen ist, dass der Pupillendurchmesser für die roten Lichtstimuli schneller zum Ausgangszustand der Pupille zurück kehrt als für die blauen Lichtstimuli.

1.1.2 Auffälliges Pupillenverhalten

Nachstehend sind zwei Fälle dargestellt, die aus der Bewertung herausgenommen wurden, aber dennoch vorgestellt werden sollen. Die zwei nachstehenden Abbildungen zeigen einen jungen Mann (Alter 24), der nach eigenen Angaben unter Kryptopyrrolurie, einer Stoffwechselerkrankung, bei der es aufgrund einer erhöhten Ausscheidung von Zink und Vitamin B6 zu einem Mangel dieser Elemente kommt (Bundesgesundheitsblatt 2007). Die Person trägt keine Sehhilfen. Zu erahnen ist, dass der Kurvenverlauf der Pupillenreaktion zwischen dem roten und blauen Lichtstimulus erst ab Zeitpunkt 3,5 s (ca. 1,5 s nach dem Lichtreiz) auseinander driftet. Wie in Abbildung 29 vergrößert dargestellt ist, lässt sich auch erkennen, dass

von den Zeitpunkten 2,5 s bis 3,5 s der Kurvenverlauf der Pupillenreaktion noch sehr dicht beieinander liegt.

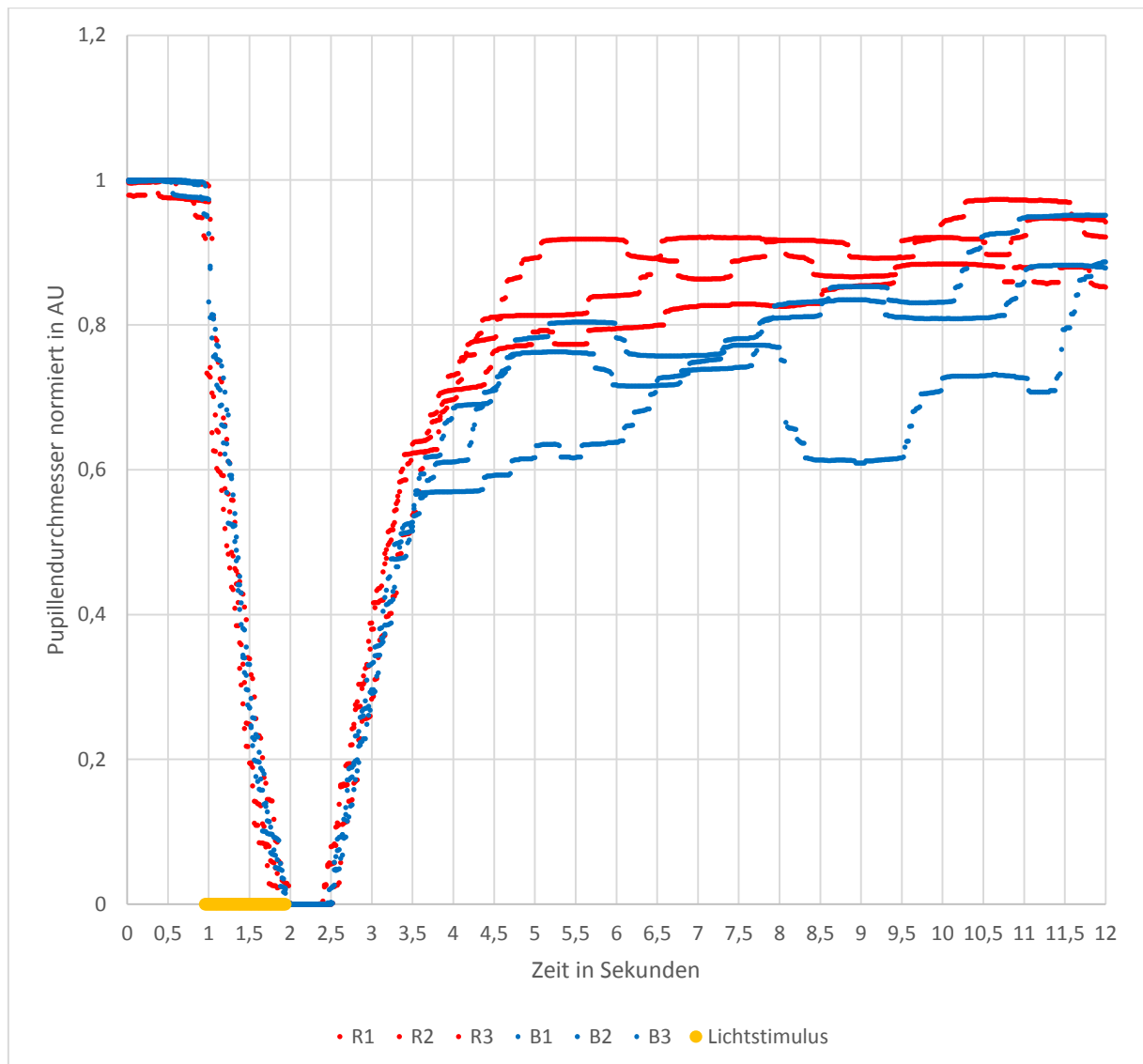


Abbildung 28: Ein junger Mann (Alter 24), mit einer Stoffwechselerkrankung (Kryptopyrrolurie). Er trägt keine Sehhilfe. Das Pupillenverhalten bleibt nach Abschalten des Lichtreizes bis etwa 1,5 s für beide Lichtreize rot und blau sehr ähnlich und lässt sich erst ab Zeitpunkt 3,5 s (1,5 s nach Abschalten des Lichtreizes) besser differenzieren.

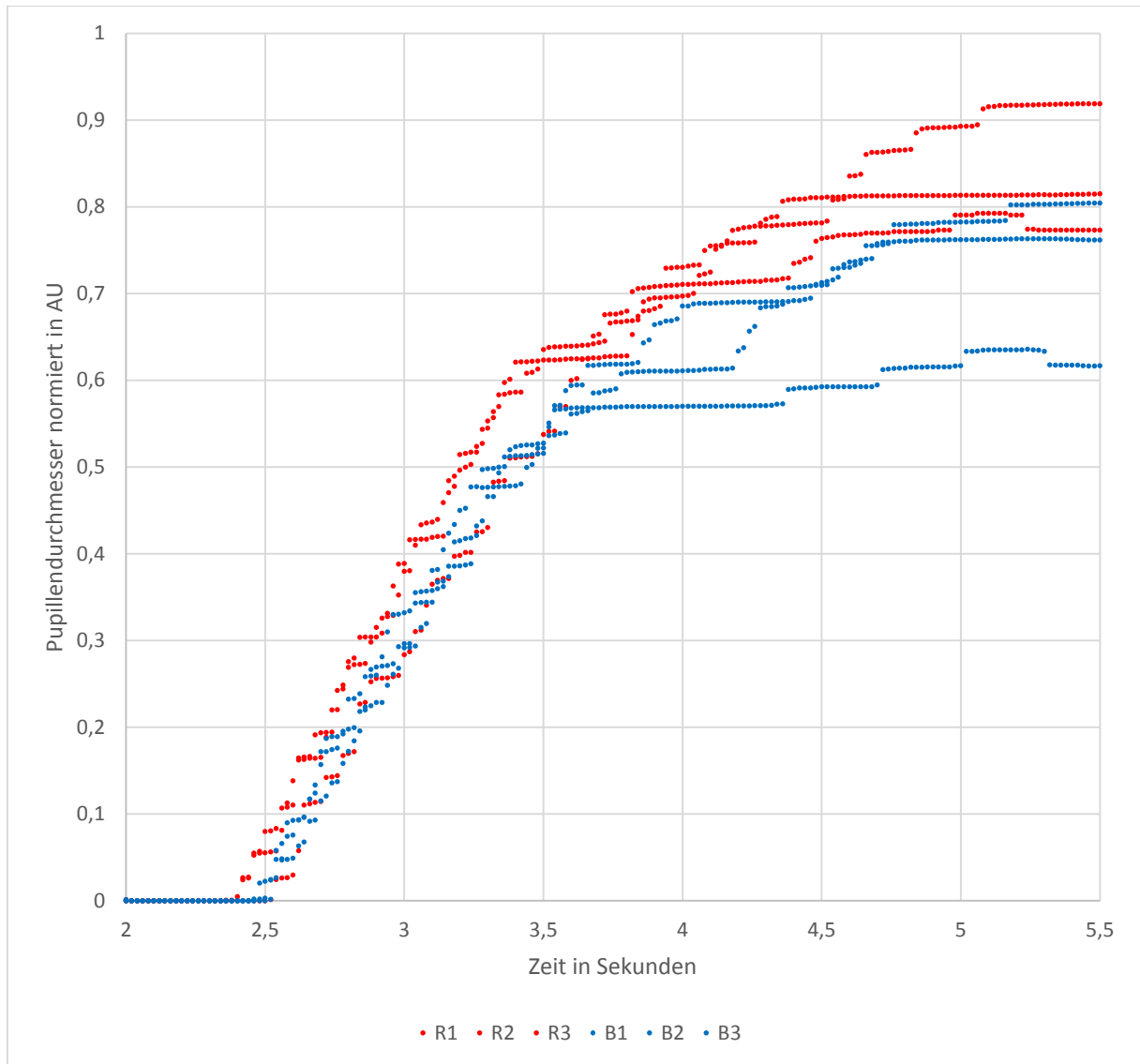


Abbildung 29: Hier ist der Zeitbereich vergrößert dargestellt. Es ist zu sehen, dass die Kurvenverläufe des Pupillendurchmessers für den roten und blauen Lichtstimulus ab dem Zeitpunkt 3,5 s (1,5 s nach abschalten des Lichtreizes) anfangen, langsam besser differenzierbar zu sein.

Die folgenden zwei Abbildungen zeigen eine ältere Frau (Alter 70). Diese Person trägt keine Sehhilfe. In beiden Darstellungen ist eine genauere Differenzierung zwischen dem Kurvenverlauf der Pupillenreaktion bei einem roten und blauen Lichtstimulus nicht eindeutig möglich. Auch in der vergrößerten Abbildung 31, ist die Überlappung des Verlaufs der Pupillenreaktion deutlich zu erkennen.

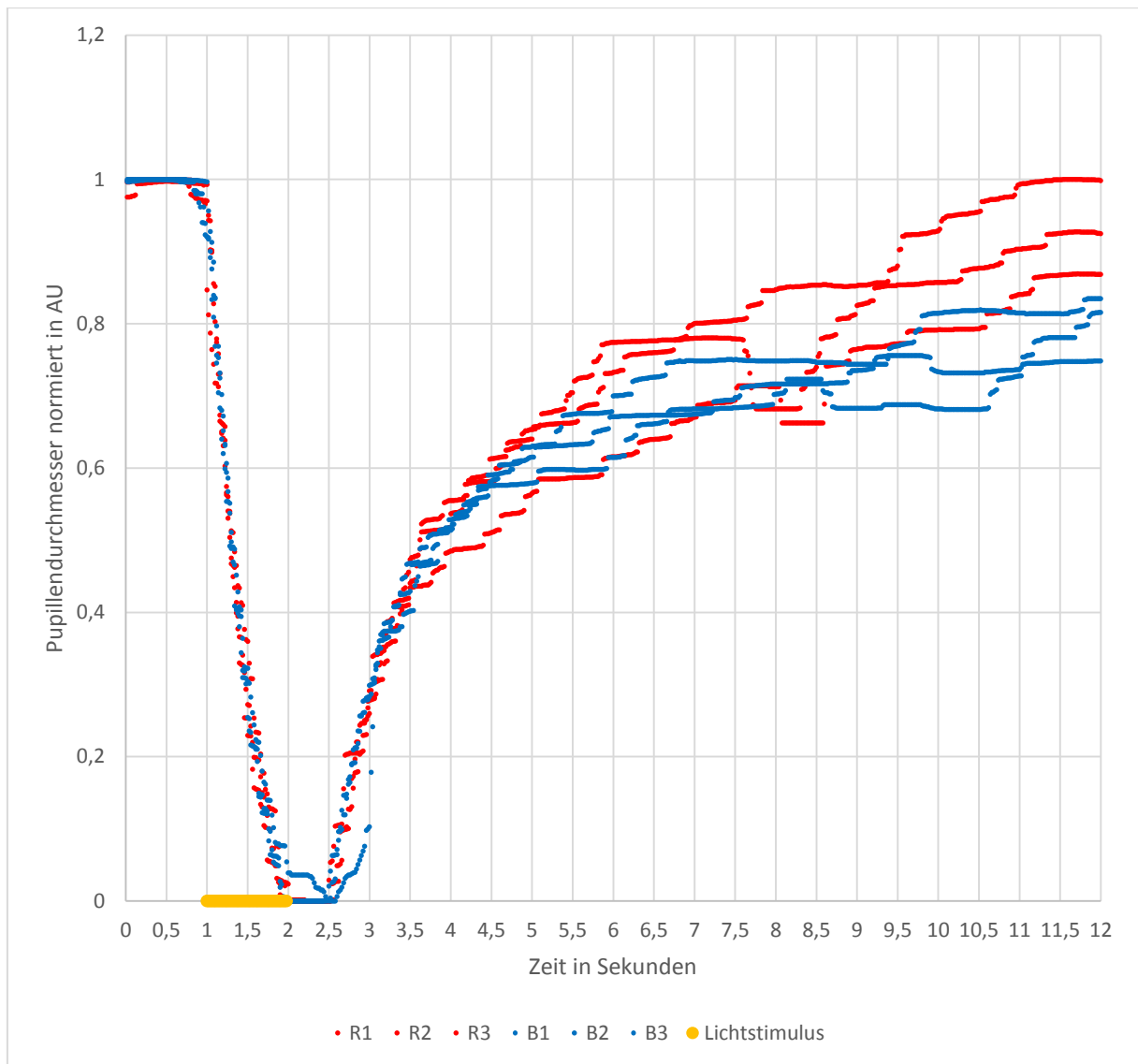


Abbildung 30: Eine ältere Frau (Alter 70), deren Pupillenreaktion in Abhängigkeit der Lichtfarbe keinen Unterschied aufweist.

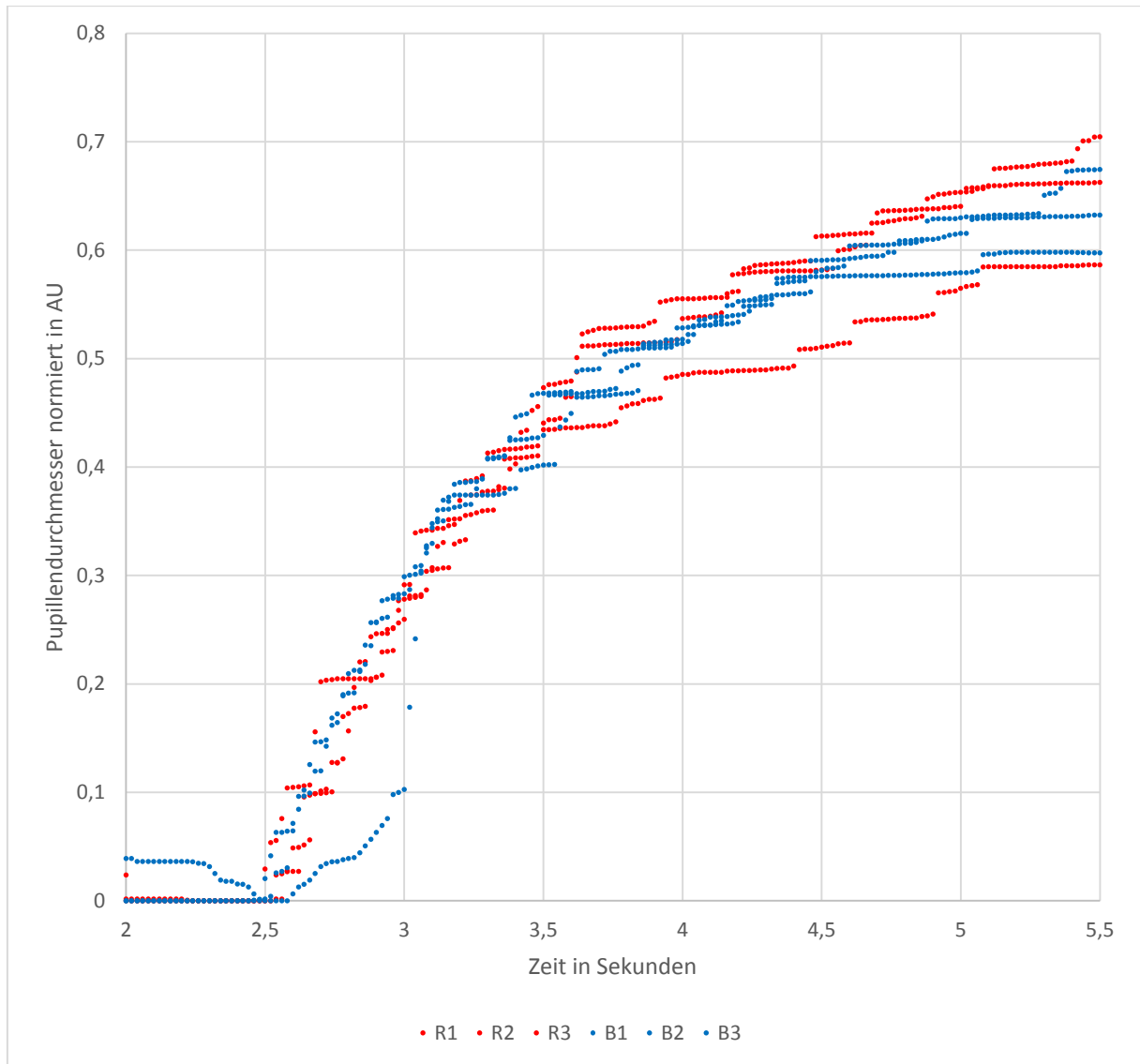


Abbildung 31: Die vergrößerte Darstellung der Pupillenreaktion aufgrund unterschiedlicher Lichtreize zeigt noch einmal deutlicher, dass bei dieser älteren Person keine Differenzierung zwischen dem PLR aufgrund eines roten und blauen Lichtstimulus möglich ist.

1.2 Statistische Auswertung

1.2.1 Unterschied zwischen den Lichtstimuli

Abbildung 32 zeigt den Zeitpunkt, ab wann sich die beiden Pupillenreaktionen bezüglich der Lichtreize rot und blau mit $p < ,05$ unterscheiden. Für die gegenwärtigen Messungen beträgt die Zeitdauer bis zu einem signifikanten Unterschied zwischen dem Pupillendurchmesser nach einem roten, beziehungsweise blauen Lichtstimulus $>0,5$ s. Nach 1 s beträgt die Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied sogar $p < ,001$ und ist damit als höchst signifikant anzunehmen.

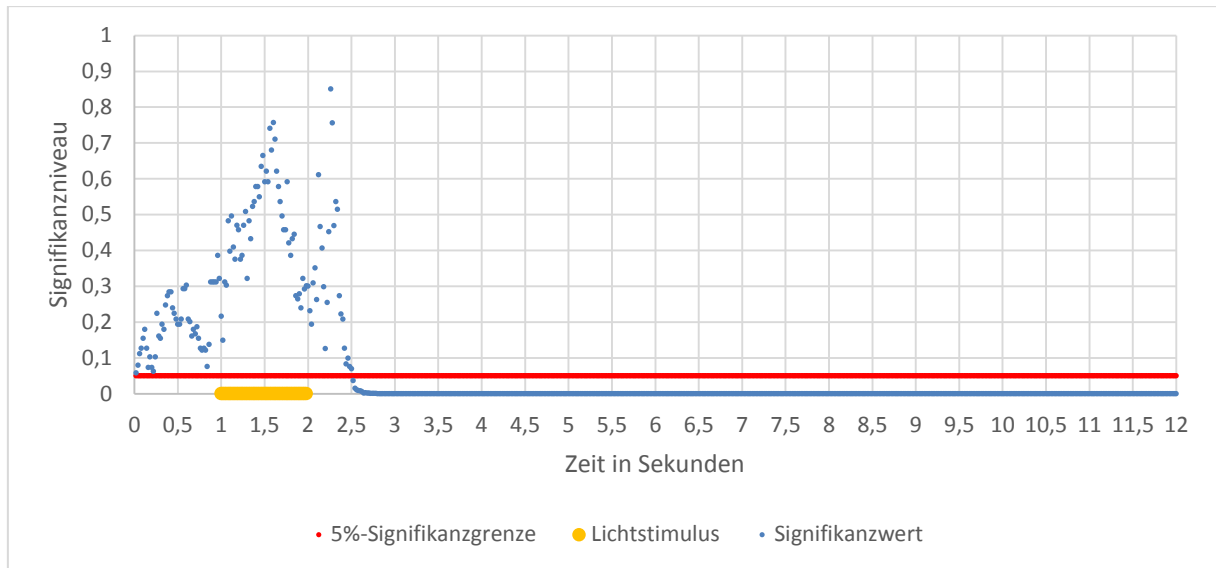


Abbildung 32: Die in dieser Grafik dargestellten blauen Punkte bilden den Signifikanzwert zu den entsprechenden Messzeitpunkten. Ab >2,5 s (>0,5 s nach abschalten des Lichtreizes) fällt der Signifikanzwert unterhalb $p = ,05$ (rote Linie) und verweilt dort für die Zeit der Messdauer. Nach bereits >2,5s (>0,5 s nach Abschalten des Lichtreizes) ist ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Messkurven des Pupillendurchmessers für einen roten, beziehungsweise einen blauen Lichtstimulus nachweisbar.

1.2.2 Geschlechterspezifischer Unterschied

Überprüft wurde auch, ob sich im Rahmen der Messungen Unterschiede in den Pupillenreaktionen zwischen den Geschlechtern und Unterschiede innerhalb eines Geschlechts für einen roten und blauen Lichtstimulus ergeben. In den zwei nachstehenden Grafen zeigt sich, dass es sowohl für den roten, als auch den blauen Lichtstimulus keinen signifikanten Unterschied für $p < ,05$ im Verhalten des Pupillen-Licht-Reflexes zwischen Männern und Frauen gibt.

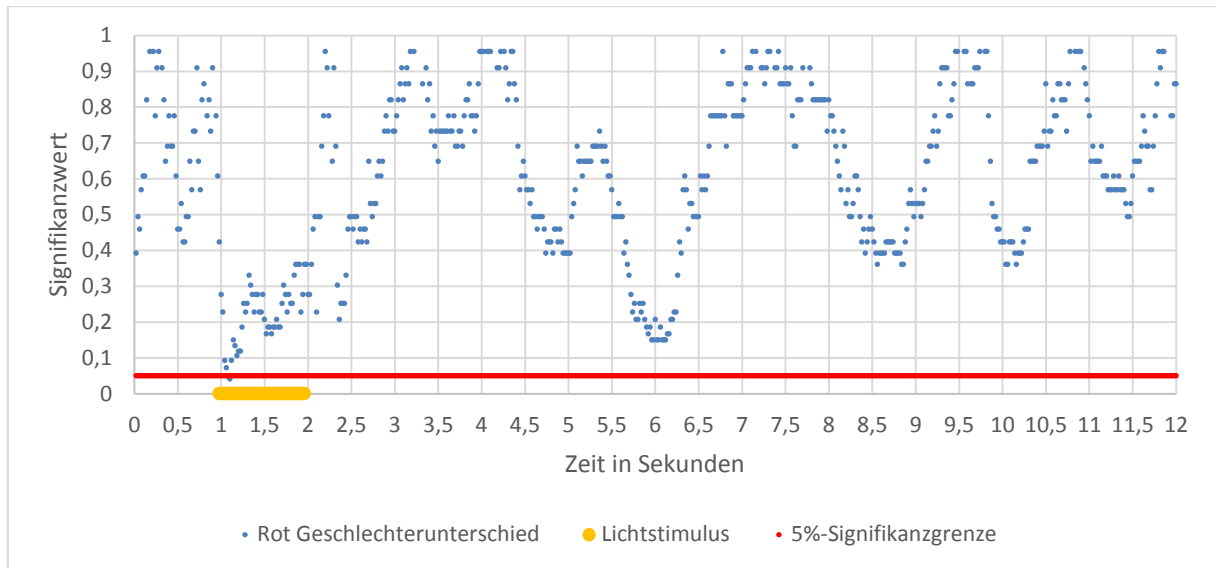


Abbildung 33: Der Graph zeigt den zeitlichen Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR zwischen Männern und Frauen für einen roten Lichtstimulus besteht. Für einen signifikanten Unterschied der Geschlechter müsste der Signifikanzwert (blaue Kurve) unterhalb der roten Linie liegen.

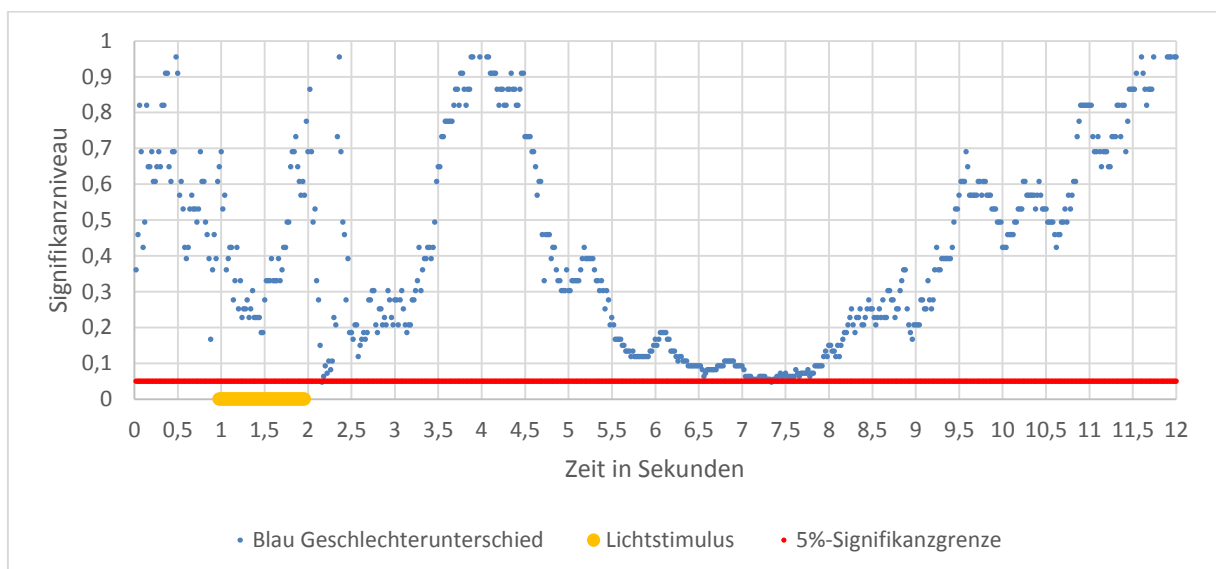


Abbildung 34: Hier dargestellt ist der zeitliche Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR zwischen Männern und Frauen für einen blauen Lichtstimulus besteht. Für einen signifikanten Unterschied der Geschlechter müsste der Signifikanzwert (blaue Kurve) unterhalb der roten Linie liegen.

In den folgenden Abbildungen ist zu erkennen, dass der Signifikanzwert für das jeweilige Geschlecht unter die 5%-Signifikanzgrenze fällt und damit einen Unterschied für den PLR zwischen einem roten und einem blauen Lichtstimulus anzeigt. Die Zeitdauer für Männer beträgt dabei <1 s bis ein signifikant unterschiedlicher Wert nach Abschaltung des Stimulus ermittelt werden kann. Bei Frauen ist dieser Wert $>0,5$ s.

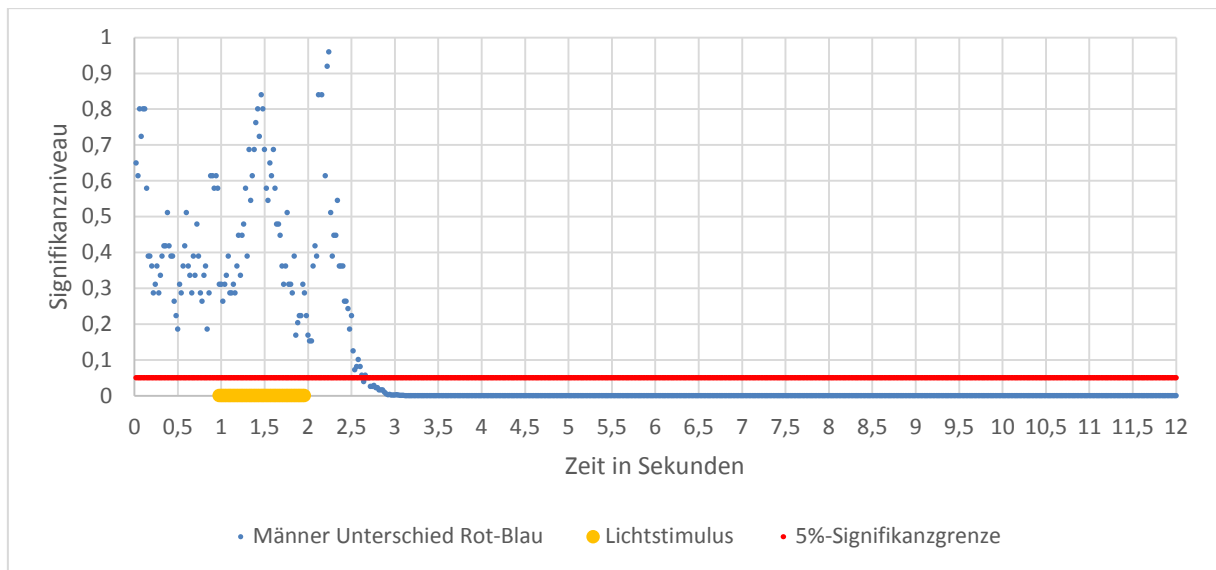


Abbildung 35: Abgebildet ist der zeitliche Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR in Abhängigkeit eines roten und blauen Lichtstimulus bei Männern eintritt. Mit Unterschreiten des Grenzwertes (rote Linie) bei <3 s (<2 s nach Abschalten des Lichtreizes) ist ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Lichtstimuli und dem resultierenden PLR vorhanden.

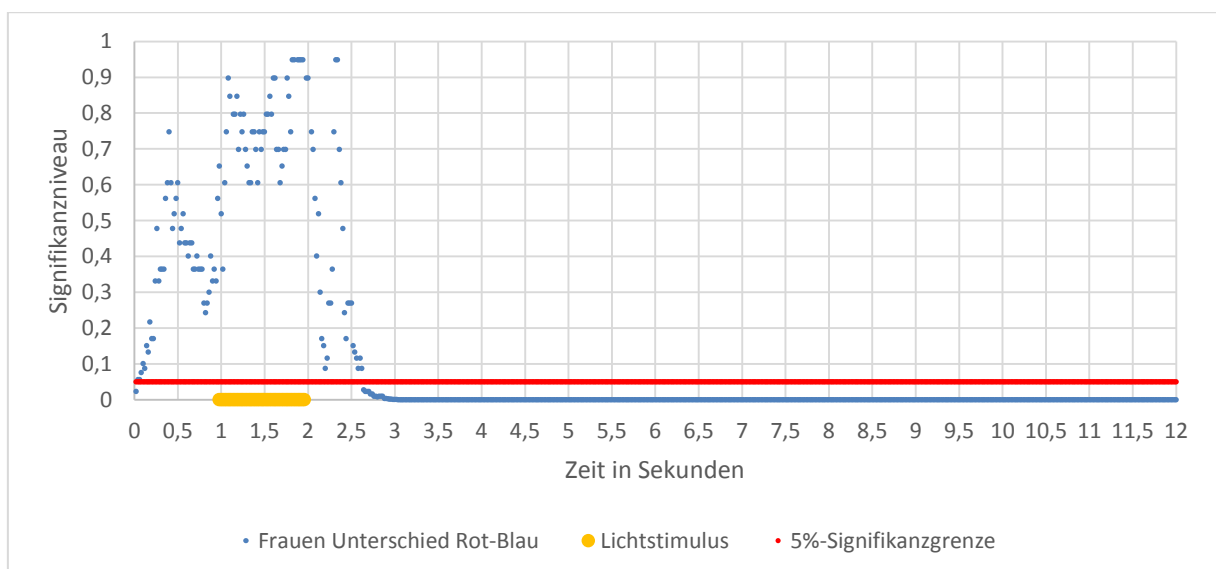


Abbildung 36: Das hier abgebildete Signifikanzverhalten zeigt den zeitlichen Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR in Abhängigkeit eines roten und blauen Lichtstimulus bei Frauen eintritt. Mit Unterschreitung des Grenzwertes (rote Linie) bei $>2,5$ s ($>1,5$ s nach Abschalten des Lichtreizes) ist ein signifikanter Unterschied in beiden Pupillenreaktionen aufgrund der unterschiedlichen Lichtstimuli vorhanden.

1.3 Effektstärke

Zur Beurteilung der Aussagekraft der statistischen Beurteilung kann die Effektstärkekurve herangezogen werden. Die nachfolgende Berechnung der Effektstärkekurve beruht auf den Messdaten über alle Probanden. Nach Cohen ergibt sich nach kurzer Zeit ($<0,5$ s nach dem Lichtstimulus) bereits ein kleiner Effekt ($d = 0,2$). Die Zunahme der Effektstärke ist groß. Bereits $>0,5$ s nach dem

Lichtstimulus ist ein starker Effekt ($d = 0,8$) vorhanden. Die Effektstärke nach Cohen kann auch Werte größer eins annehmen. Nach $>1,5$ s nach Abschalten des Lichtstimulus erreicht die Effektstärke sogar Werte >2 .

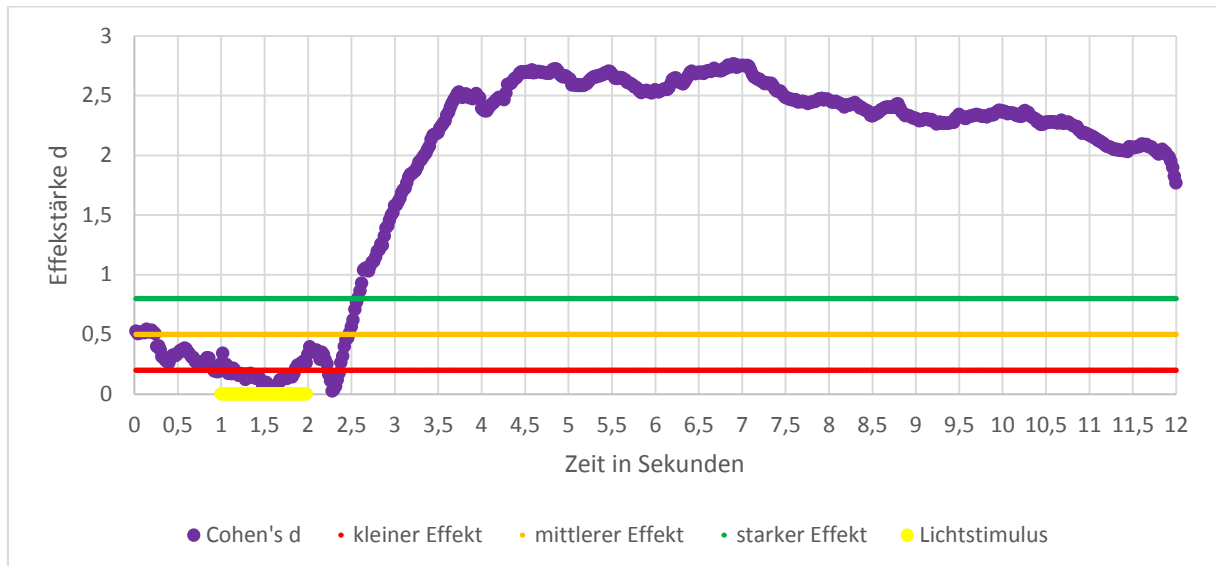


Abbildung 37: Die Effektstärke zu den jeweiligen Messzeitpunkten steigt kurz nach Abschalten des Lichtstimulus rapide an und übersteigt nach $>2,5$ s ($>0,5$ s nach Abschalten des Lichtreizes) bereits die Grenze für einen starken Effekt ($d = 0,8$). Mit zunehmender Zeit wird auch der gemessene Effekt immer größer.

1.4 Power (Teststärke)

In den folgenden Diagrammen ist die Entwicklung der Teststärke in Abhängigkeit von verschiedenen Größen dargestellt. So zeigt Abbildung 38, dass mit zunehmender Effektstärke die Aussagekraft der statistischen Beurteilung rapide zunimmt. Im medizinischen Sachverhalt wird empfohlen, eine Teststärke von $>80\%$ zu erreichen. In Abbildung 39 und Abbildung 40 ist jeweils die Entwicklung der Teststärke in Abhängigkeit von der Testgröße und des zugrunde gelegten Alphafehlers gegenüber der Effektstärke dargestellt. Da nach kurzer Zeit bereits ein starker Effekt erzielt wird, sind hauptsächlich die größeren Effektstärken relevant.

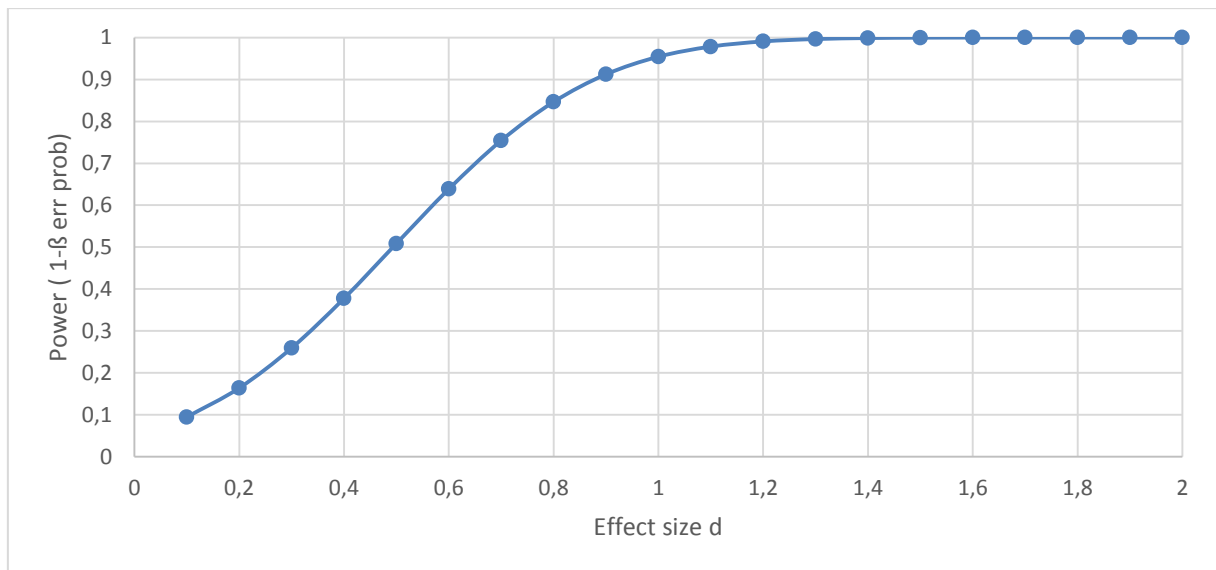


Abbildung 38: Mit zunehmender Effektstärke wird die Power (Teststärke) größer. Bereits für einen starken Effekt ($d = 0,8$) ist die Teststärke auf über 80% angewachsen.

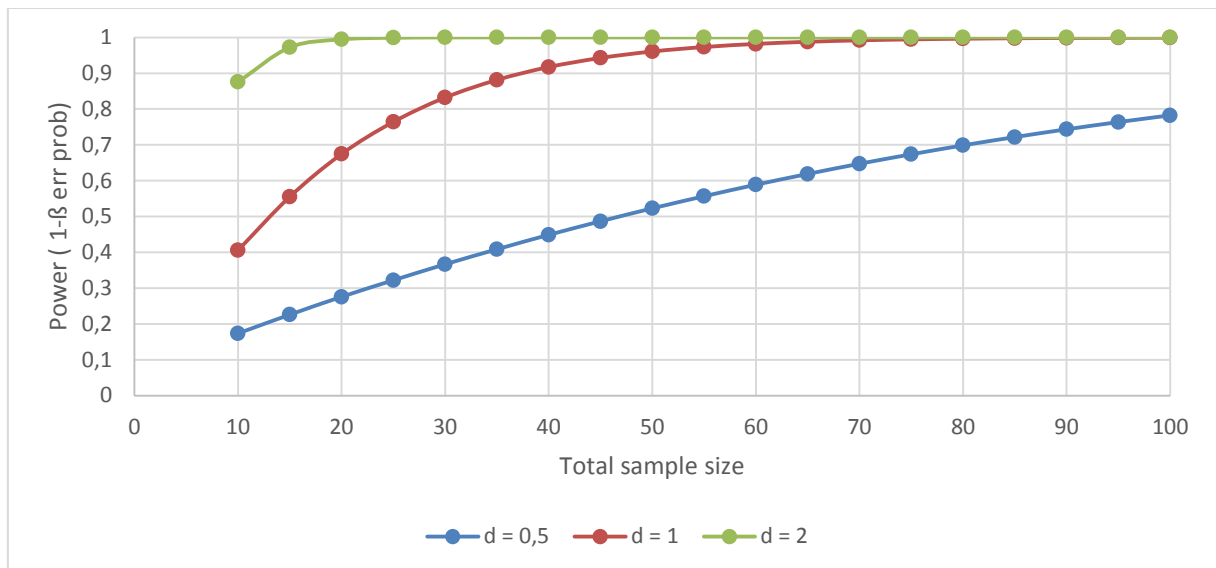


Abbildung 39: Mit zunehmender Probanden- bzw. Testanzahl reduziert sich die Möglichkeit für einen zufälligen Unterschied zwischen roten und blauen Lichtstimulus für den PLR. Bei der hohen Effektstärke reicht bereits eine sehr geringe Zahl von Probanden aus, um die statistische Berechnung des signifikanten Unterschiedes zu stützen.

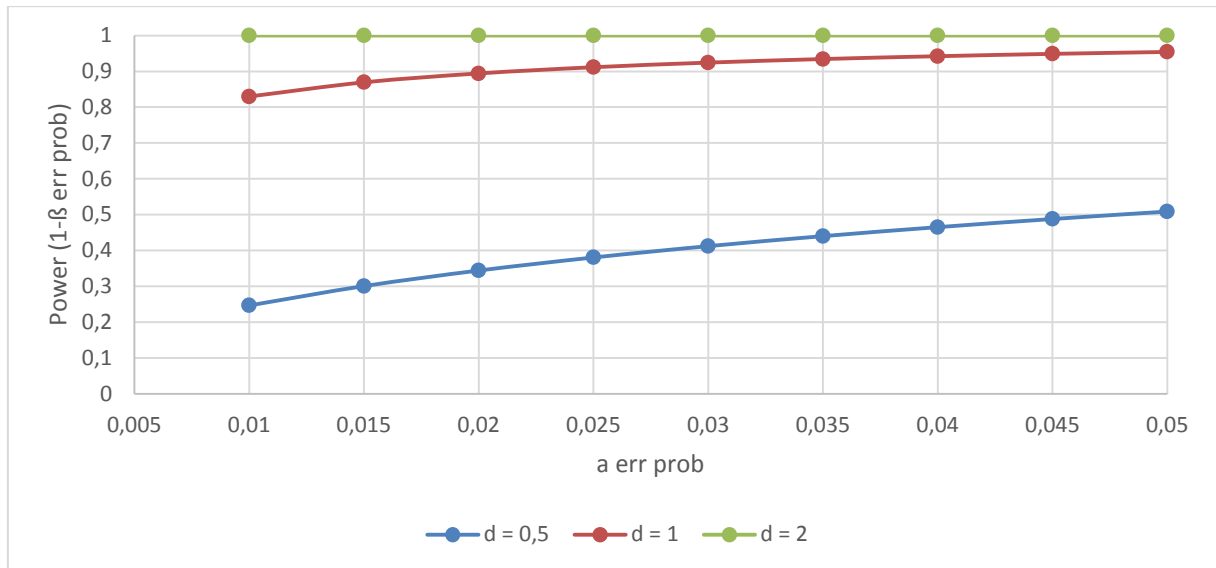


Abbildung 40: Mit einer großen Effektstärke ($d > 1$), reduziert sich die Möglichkeit für einen Fehler I. bzw. II. Art. Ebenso bleibt die Power (Teststärke) für ein strengeres Signifikanzniveau ebenfalls auf einem hohen Level.

2. Ergebnisse und statistische Beurteilung von Populationsgruppe 2

In diesem Absatz werden zwei Kurvenverläufe von zwei Demenzpatienten dargestellt. Die Kurven sollen individuell betrachtet werden. Im Anhang finden sich die verbliebenen sechs Testpersonen, deren Messwerte ausgewertet werden konnten. Die hier dargestellten Kurvenverläufe zeigen jeweils einmal die überlagerten Einzelmesswerte und darauf folgend den gemittelten PLR nach einem roten, bzw. einem blauen Lichtstimulus. Die ersten zwei Graphen zeigen eine Person, deren PLR sich aufgrund der unterschiedlichen Lichtstimuli unterscheiden lässt, wohingegen die letzten beiden Graphen einer Person zuzuordnen sind, deren PLR sich nicht mehr gut differenzieren lassen.

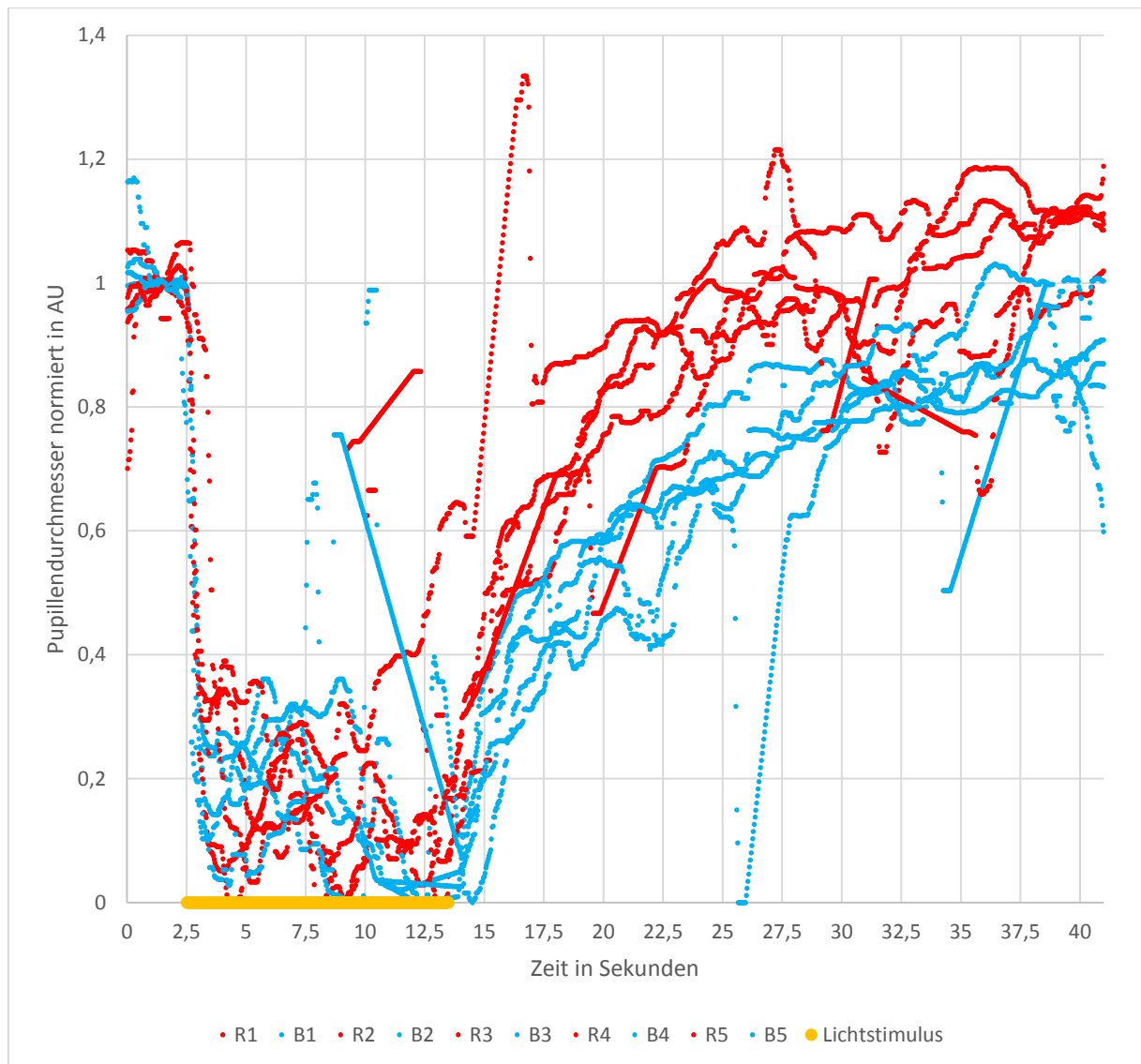


Abbildung 41: Proband 7: Die Testperson ist weiblich, 77 Jahre alt und leidet an einer Form der senilen Demenz. Sie hat einen MMSE-Score von 20. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Die Testperson trägt normalerweise eine Brille. Man kann erkennen, dass trotz Artefaktkorrektur noch einige Artefakte vorhanden sind. Diese müssen bei der weiteren Auswertung mit berücksichtigt werden.

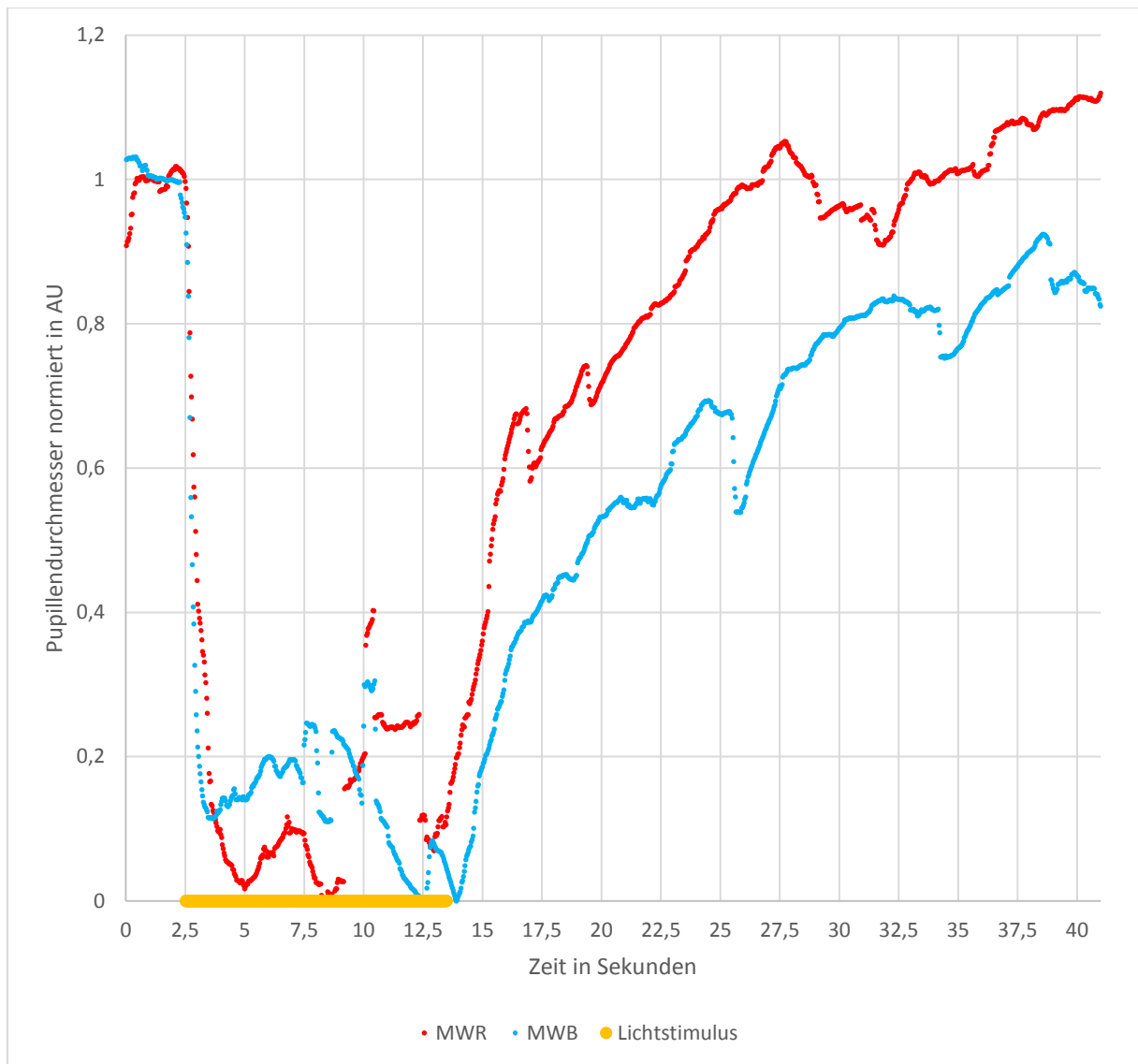


Abbildung 42: Proband 7: Die gemittelten Kurven aus Abbildung 41 zeigen einen sichtbaren Unterschied im Pupillenverhalten für einen roten und einen blauen Lichtstimulus.

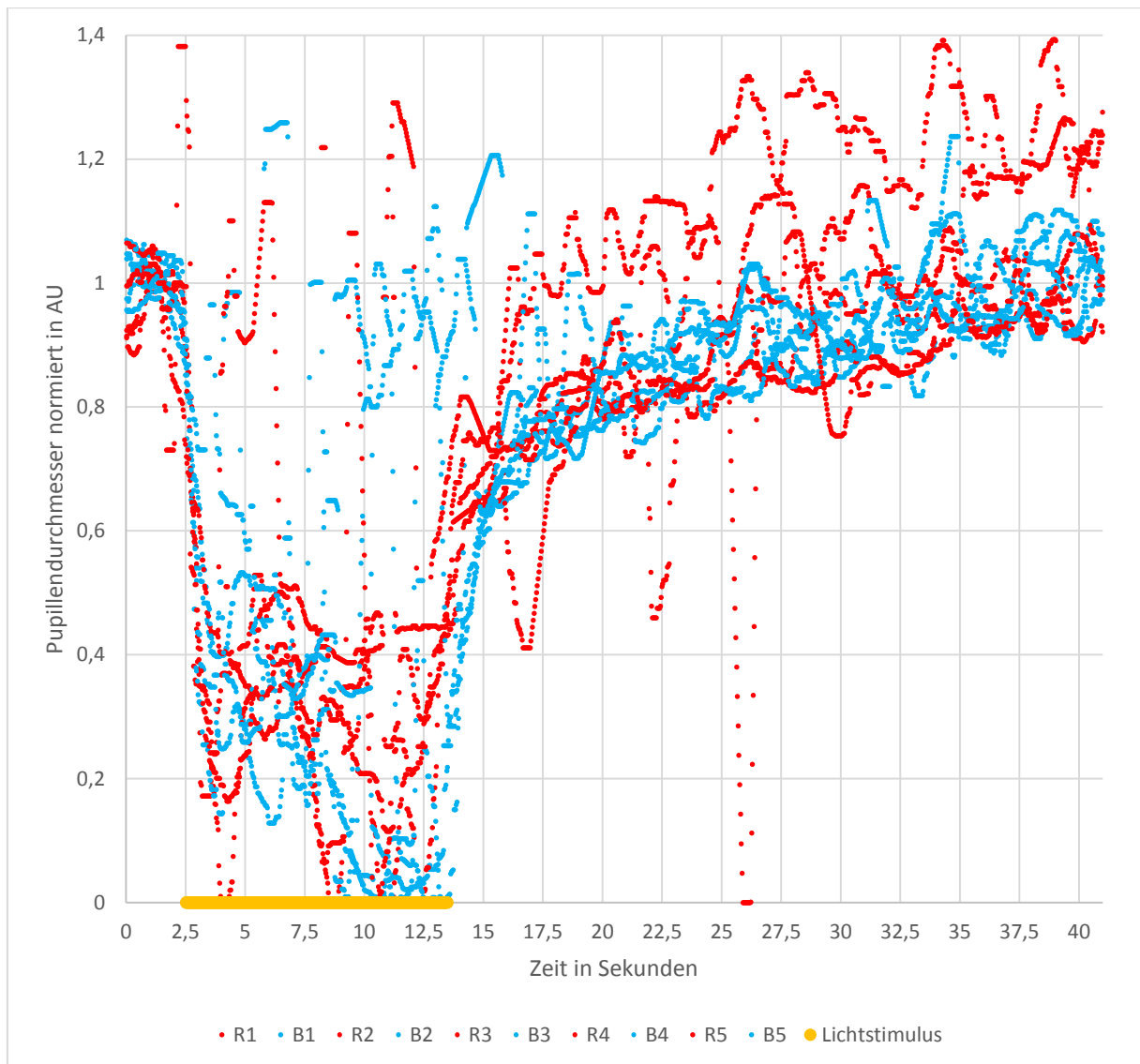


Abbildung 43: Proband 8: Die Testperson ist weiblich, 96 Jahre alt. Ihre Demenzform ist nicht näher spezifiziert. Auch Sie hat einen MMSE-Score von 20. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Die Testperson trägt normalerweise eine Brille. Die hier auftretenden Artefakte können trotz der Korrekturmaßnahmen auch nicht alle beseitigt werden. Auch hier muss dies bei der weiteren Auswertung mit berücksichtigt werden.

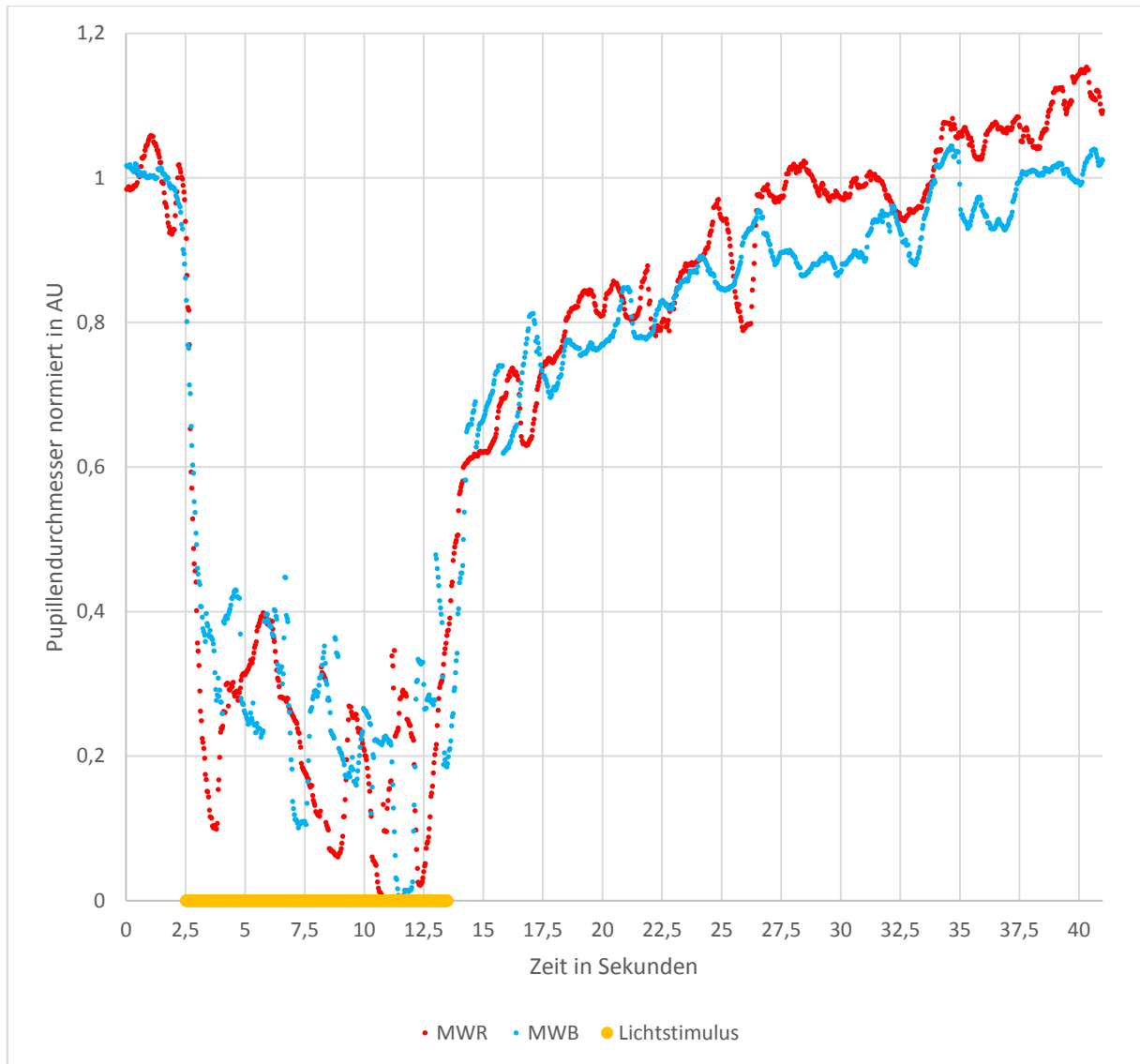


Abbildung 44: Proband 8: Die gemittelten Kurven aus Abbildung 43 zeigen keinen sichtbaren Unterschied im Pupillenverhalten für einen roten und blauen Lichtstimulus.

2.1 Statistische Auswertung

Die hier dargestellten Graphen zeigen wie auch unter *Kapitel 3 – Ergebnisse 1.2 Statistische Auswertung* den Zeitpunkt an, ab wann ein signifikanter Unterschied, wenn es einen gibt, vorliegt. Die zugehörigen Auswertungen zu den anderen auswertbaren Messungen finden sich ebenfalls im Anhang wieder. Von den acht auswertbaren Messungen weisen zwei Messungen einen signifikanten Unterschied für $p < ,05$ auf, welcher kurz nach Abschalten des Lichtreizes eintritt. Aufgrund der hohen Artefaktrate sollte das Ergebnis nur dann als signifikant unterschiedlich angesehen werden, wenn es über einen längeren Zeitraum stabil signifikant geblieben ist. Ebenso ist ein kurzzeitiges Überschreiten der 5%-Signifikanzgrenze

zwischen zwei längeren Perioden eines signifikanten Unterschiedes auf ein Artefakt, anstatt auf eine tatsächliche Gleichheit der Testgrößen zurückzuführen.

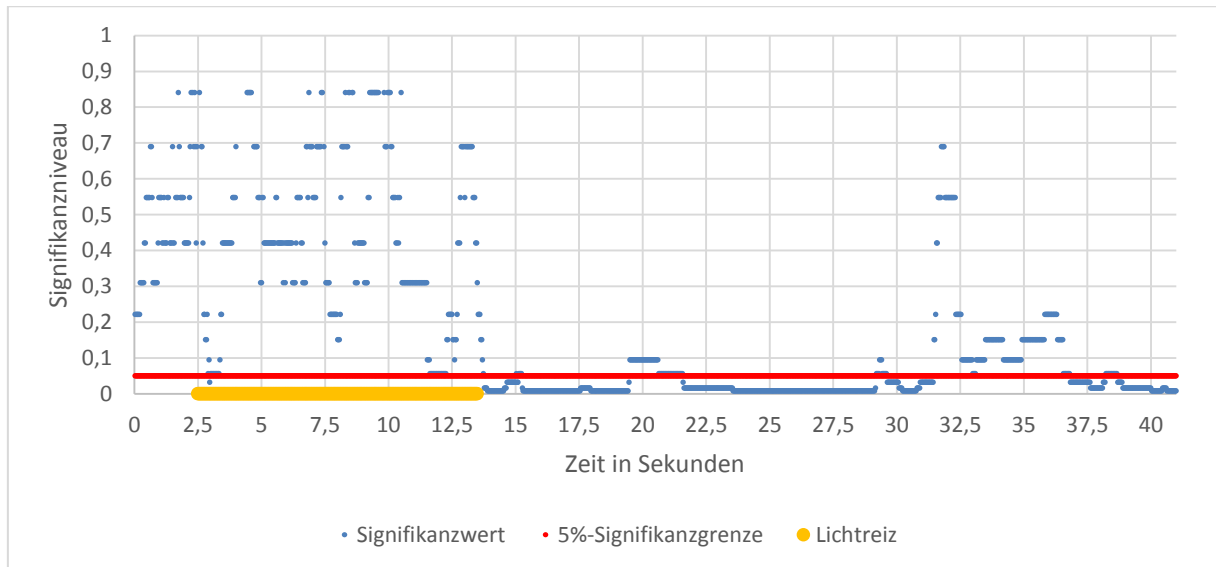


Abbildung 45: Proband 7: Die Testperson zeigt kurz nach Abschalten des Lichtreizes einen signifikanten Unterschied zwischen einem roten und einem blauen Lichtreiz ($p < ,05$) in ihrem Pupillenverhalten. Dies weist darauf hin, dass die Reizweiterleitung für den PLR und damit wahrscheinlich auch zum SCN gewährleistet ist.

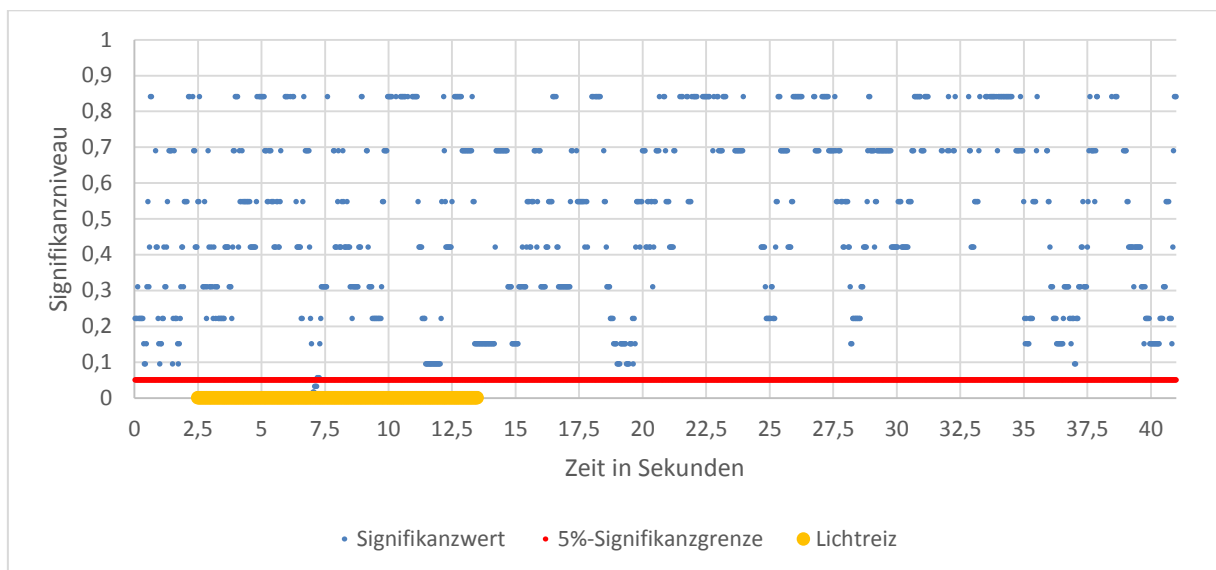


Abbildung 46: Proband 8: Die Testperson zeigt zu keinem Zeitpunkt einen Unterschied in Ihrem Pupillenverhalten aufgrund der unterschiedlichen Lichtstimuli. Die Ursache kann verschiedene Gründe haben und bedarf weiterer Klärung.

2.2 Effektstärke

Auch für die Demenzpatienten wurde die Effektstärke zum jeweiligen Messzeitpunkt berechnet. Durch die hohe Artefaktdichte schwankt die Effektstärke jedoch beträchtlich und dient nur als Hinweis. Dennoch zeigen die individuellen

Berechnungen der Effektstärke pro Messzeitpunkt eine starke Korrelation zu den statistischen Auswertungen. So weisen beide Testpersonen, deren PLR signifikant unterschiedlich sind, für die entsprechenden Zeitbereiche eine hohe Effektstärke zum jeweiligen Messzeitpunkt auf. Dagegen schwanken die Effektstärkekurven für die anderen Testpersonen im unteren Bereich der Skala.

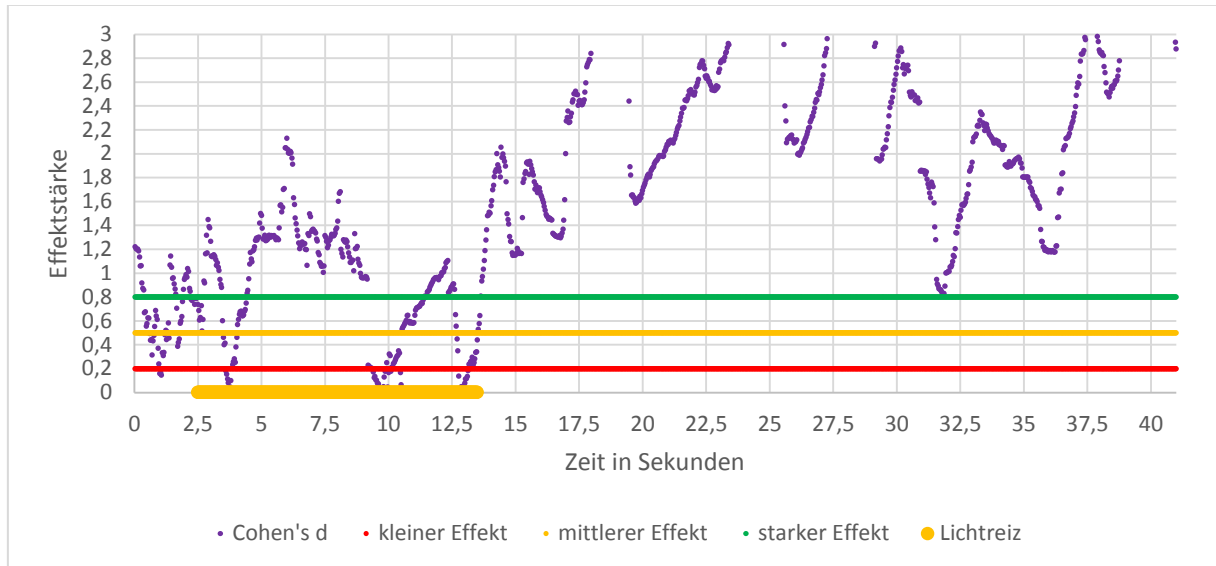


Abbildung 47: Proband 7: Der Verlauf der Effektstärke für jeden Messzeitpunkt zeigt trotz der hohen Artefaktzahl, dass die signifikanten Ergebnisse aus Abbildung 45 mit einem hohen Effekt korrelieren.

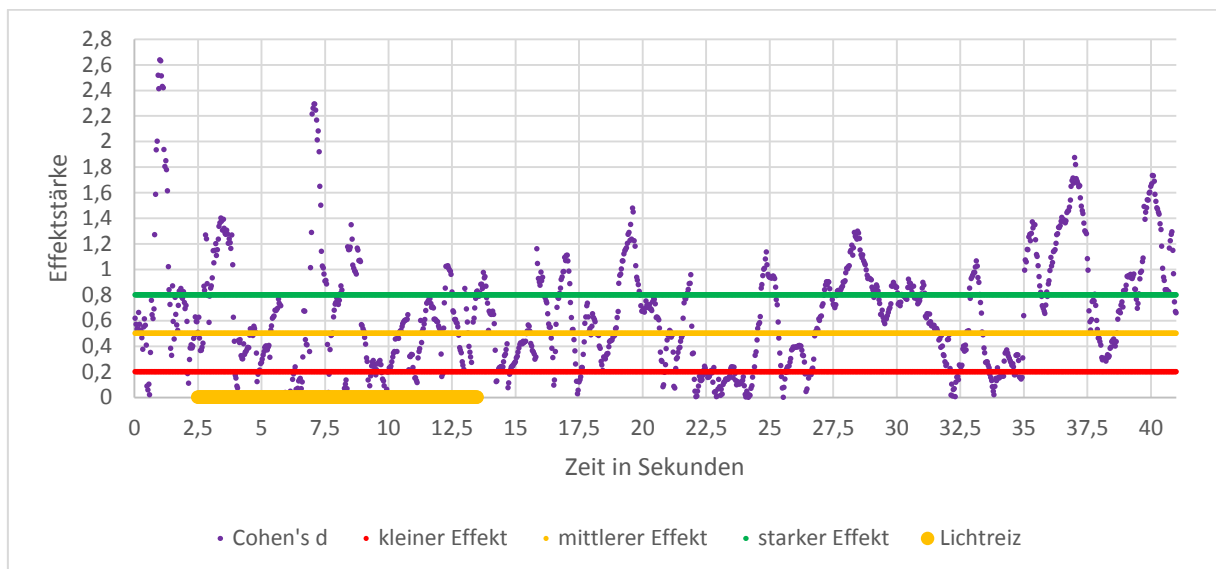


Abbildung 48: Proband 8: Für diese Versuchsperson schwankt die Effektstärke für jeden Messzeitpunkt im unteren Bereich der Skala. Zwar sind die nach Cohen definierten Effektstärkegrade auch für einen starken Effekt (0,8) übertroffen, so ist dieser für die geringe Messzahl jedoch nicht ausreichend, um den, wie in Abbildung 46 dargestellten, Unterschied signifikant zu bestätigen.

2.3 Power (Teststärke)

Für Populationsgruppe 2 wird post-hoc nur die Teststärke in Abhängigkeit der Effektstärke für eine Stichprobenzahl von $N = 5$ Messungen pro Testvariable angegeben. Entsprechend ist aus Abbildung 49 zu entnehmen, dass zum Ausschluss eines Fehlers II Art bei gegebenen 80%, mindestens eine Effektstärke von 1,8 vorliegen muss.

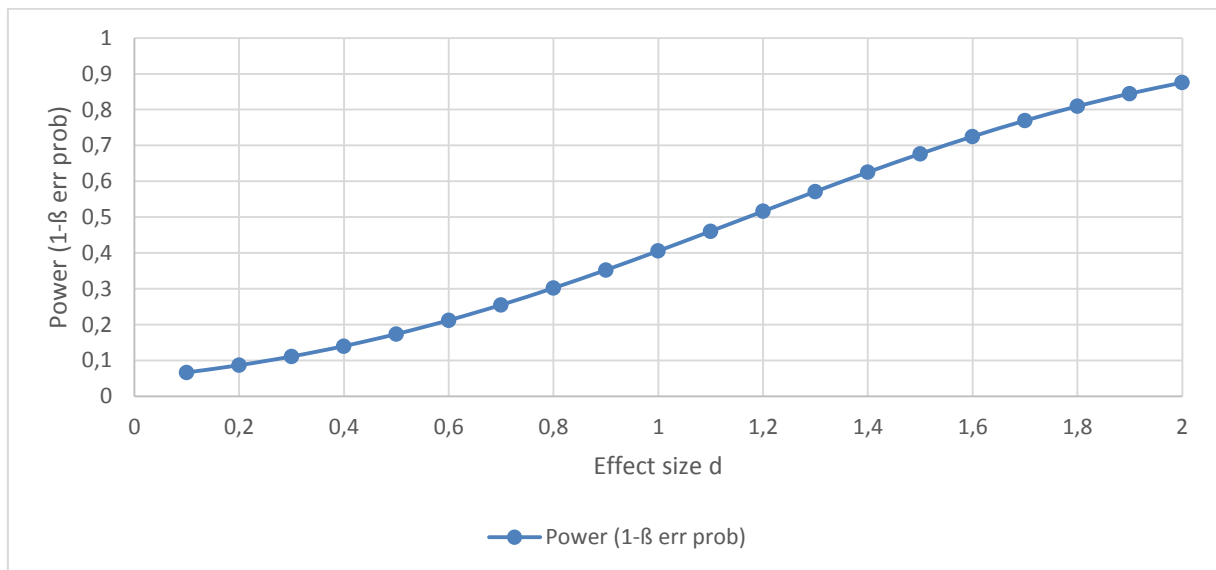


Abbildung 49: Mit zunehmender Effektstärke wird die Power (Teststärke) größer. Durch die geringe Stichprobenzahl ist ein sehr großer Effekt (1,8) notwendig um über die geforderten 80% zu gelangen, um einen Fehler II Art auszuschließen.

Kapitel 4 – Diskussion

1. Populationsgruppe 1 – gesunde Erwachsene

1.1 Bewertung der Messergebnisse

Der gemessene Kurvenverlauf weist eine hohe Ähnlichkeit mit den Ergebnissen von Park (Park, Moura et al. 2011) auf.

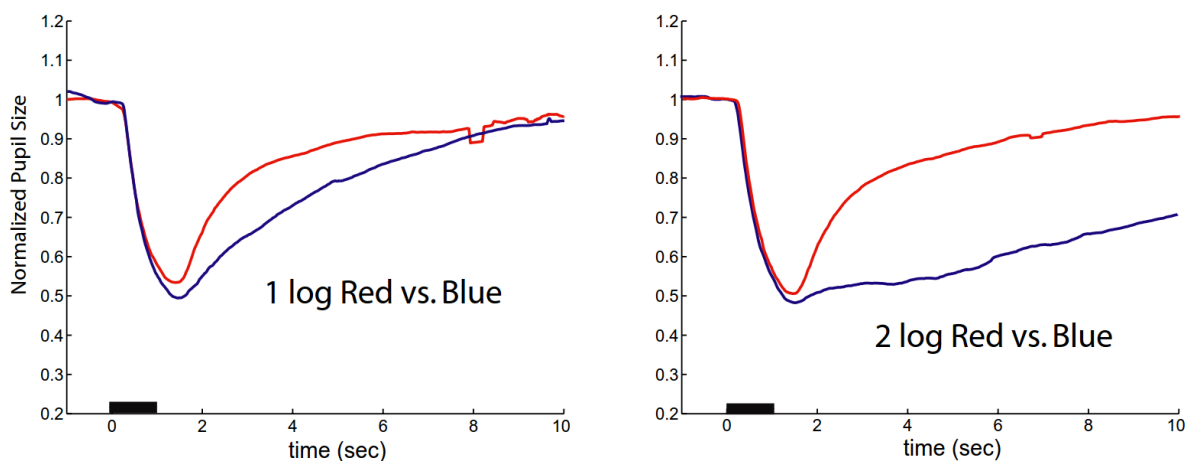


Abbildung 50: Dargestellt ist der Mittelwert des PLR für sieben Probanden aus den Versuchen von Park für einen roten und einen blauen Lichtstimulus bei unterschiedlichen Leuchtdichten (1 log entspricht 10 cd/m²; 2 log entspricht 125 cd/m²)

Der statistisch signifikante Unterschied nach >0,5 s und der sogar hoch signifikante Unterschied 1s nach dem Lichtstimulus mit der hohen Effektstärke zeigen, dass das mobile Messgerät einen Unterschied in den Pupillendurchmessern aufgrund unterschiedlicher Lichtreize detektieren kann.

Es kann deswegen angenommen werden, dass diese mobile Messeinrichtung zur Untersuchung der Funktionsfähigkeit intrinsisch photosensitiver retinaler Ganglienzellen des Typs M1-Brn3b-positiv aufgrund des konsensuellen PLR angewendet werden kann.

Die Nullhypothese H_0 kann somit abgelehnt werden und die Alternativhypothese H_A gilt als angenommen.

1.2 Unterschied zwischen den Geschlechtern

Mit den hier erhobenen Messdaten kann kein Unterschied im Pupillenverhalten bezüglich eines roten oder blauen Lichtstimulus aufgrund des Geschlechts festgestellt werden. Auch zeigen beide Berechnungen, dass sowohl Männer als auch Frauen nach einer kurzen Zeitdauer einen signifikanten Unterschied in der Pupillenreaktion aufweisen. Dass ein signifikanter Unterschied bei Männern augenscheinlich später eintritt als bei Frauen, kann mit der manuellen Aufbereitung der Messdaten zur Auswertung zusammen hängen.

1.3 Sonderfälle

1.3.1 Proband – Stoffwechselerkrankung

Da es sich um eine junge Versuchsperson handelt, ist nicht davon auszugehen, dass es sich um eine altersbedingte Veränderung der Linse handelt (Dillon, Zheng et al. 2004). Interessant ist der im direkten Vergleich mit anderen Probanden dieser Altersgruppe geringe sichtbare Unterschied zwischen den beiden Pupillenreaktionen.

1.3.2 Proband – 70+

Die Kurven der älteren Probandin zeigen einen erwarteten Verlauf des Pupillenverhaltens bezüglich der beiden Lichtstimuli, wenn man berücksichtigt, dass das Transmissionverhalten der Linse aufgrund einer altersbedingten Linsentrübung für den blauen Spektralanteil im Licht schlechter wird. In diesem Zusammenhang wurde nicht überprüft, ob eine höhere Intensität von blauem Licht vielleicht ausgereicht hätte, um einen Unterschied herbei zu führen.

2. Populationsgruppe 2 - Demenzpatienten

Im Vorfeld kamen Bedenken auf, dass die Demenzpatienten das Messgerät als störend empfinden könnten. Aus anderen Studien ist bekannt, dass Demenzpatienten oftmals die aktivitätsmessenden Geräte, die meist am Handgelenk getragen werden, während den Studien als störend empfinden und ablegen. Es musste damit gerechnet werden, dass die Demenzpatienten den Apparat während der Messung abnehmen oder aufgrund der dargebotenen Lichtreize aggressiv oder nervös werden könnten. Die Erfahrungen, die mit den 47 Teilnehmern aus den Demenzpflegeheimen stammen, sind eine rein subjektive Beurteilung, dennoch hat,

zumindest bei den getesteten Bewohnern, keiner der Versuchsteilnehmer Anzeichen dafür gezeigt, dass diese Untersuchung eine Belastung darstellte. Zwar unterlagen die Teilnehmer vorab bereits einer Auswahl durch die Pflegeleitung, dennoch gab es ein paar Fälle, in denen einige Bewohner als schwierig oder ungeduldig beschrieben wurden. In diesen Untersuchungen kam es jedoch zu keinen Schwierigkeiten mit den Bewohnern und keine der Testungen musste abgebrochen werden. Diese Erfahrungen zugrunde legend erscheint eine Testung an Menschen, die unter einer Demenz leiden, durchaus als durchführbar. Die eigentliche Problematik besteht eher in der Qualität der Messwerte, da die Demenzpatienten im Einzelfall permanent daran erinnert werden müssen, die Augen, im Besonderen nach dem Lichtreiz, offen zu halten.

Betrachtet man die auswertbaren Fälle, so weisen zwei von acht älteren Menschen mit einer Demenz noch einen erkennbaren Unterschied im Pupillenverhalten aufgrund unterschiedlicher Lichtpulse auf. Es ist nicht auszuschließen, dass bei einer geringeren Artefaktmenge weitere Messungen hätten ausgewertet werden können, sowie bestehende Messungen ein deutlicheres, ja vielleicht sogar signifikantes Ergebnis gebracht hätten. Es muss ebenso bedacht werden, dass bei einer höheren Lichtdosis vielleicht eine unterschiedliche Reaktion des PLR provoziert hätte werden können.

3. Sicherheit der Probanden

Die im Vorfeld erbrachte Risikoeinschätzung zeigt, dass bei Einhaltung der Ausschlusskriterien in Bezug auf eine vorhandene Epilepsie das Risiko für eine solche vernachlässigbar klein ist. Auch die Bewertung nach deutschem Standard, der immer häufiger kritisierten Blaulichtschädigung durch LED, zeigt, dass keine Gefährdung für das Auge durch den Messapparat in der vorhandenen Konfiguration besteht. Nach den Bewertungskriterien wäre es sogar möglich, mit der Leistung der LEDs noch weiter nach oben zu fahren, um die Ergebnisse von Park besser nachzubilden. Demzufolge ist von keiner ernsthaften gesundheitlichen Veränderung oder Gefahr bei Gebrauch des Messgerätes für den Probanden auszugehen.

4. Limitierungen dieser Untersuchung

Eine Schwäche dieser Untersuchung ist die kurze Erholungszeit für die Pupille, vor allem nach den roten Lichtstimuli bei Populationsgruppe 1. Ebenso ist zu kritisieren, dass die Abfolge der Reizgabe festgelegt und nicht permutierend gewesen ist. Ein weiterer Kritikpunkt ist die manuelle Überlagerung der Messkurven, die pro Messkurve mit einer geschätzten Toleranz von 0 bis 5 Messpunkten (bis 0,1 s für Populationsgruppe 1 und bis 0,17 s für Populationsgruppe 2) angenommen werden kann.

Kapitel 5 – Zusammenfassung und Ausblick

Es konnte gezeigt werden, dass mit dem mobilen Pupillometriemessgerät und dem konsensuellen Pupillen-Licht-Reflex ein Unterschied im Pupillenverhalten aufgrund unterschiedlicher Lichtreize (rot und blau) gemessen werden kann.

Durch die kompakte Bauweise lässt sich das Gerät auch leicht im Feld einsetzen und kann so auch an Populationsgruppen getestet werden, die schwerer zugänglich sind. Im Rahmen dieser Arbeit hat sich gezeigt, dass solch ein System auch bei Menschen mit Demenz eingesetzt werden kann. Gerade mit einem zunehmenden Anteil an Menschen mit einer Demenzerkrankung in unserer Gesellschaft, kann eine Bestimmung der Funktionsfähigkeit der ipRGCs von Nutzen sein. Ist der Funktionsstatus der ipRGCs bekannt, so können entsprechende Schritte eingeleitet werden, um einen natürlichen Schlafrhythmus zu etablieren. Dies kann bei funktionierenden ipRGCs zum Beispiel durch eine gezielte Lichttherapie erfolgen. Bei einem erkannten Defekt könnte die Gabe von synthetischem Melatonin zu einem bestimmten Zeitpunkt helfen, den Tages- und Nachtrhythmus einzustellen. Dies stellt nicht nur eine Verbesserung der Lebensqualität für Demenzpatienten dar, sondern bildet auch eine Entlastung für pflegende Angehörige und Pflegepersonal in Einrichtungen, da die nächtliche Aktivität reduziert oder ganz ausgeschaltet wird.

Betrachtet man den PLR alleine als Indikator für die Durchlässigkeit der Linse für blaues Licht, so ergeben sich alleine hieraus mehrere Fragestellungen.

- Lässt sich bei älteren Populationsgruppen (70+) ein Unterschied im Pupillenverhalten diagnostizieren, wenn die Intensität der blauen Spektralanteile erhöht wird?
- Wie wirkt sich eine künstliche Linse mit Färbung, zum Beispiel nach einer Katarakt-Operation, aus?
- Wie verhält sich der Pupillen-Licht-Reflex bei einem kurzen Lichtstimulus bei Demenzpatienten?
- Wie verhält sich der Pupillen-Licht-Reflex bei spezifischen Demenzgruppen?

Weitere Fragestellungen könnten sein:

- Lässt sich der Pupillen-Licht-Reflex als Diagnosemittel einsetzen, um frühzeitig einen Anstieg des Augeninnendrucks zu erkennen?

Für die Zukunft wäre es wünschenswert, weitere Untersuchungen an relevanten Populationsgruppen durchzuführen. So wurde kürzlich eine Studie zu altersbedingter Makuladegeneration veröffentlicht, in welcher der Pupillen-Licht-Reflex mit ähnlichen Lichtreizen getestet wurde. Ziel war es, aufgrund unterschiedlicher Pupillenkonstriktionszeiten einen Rückschluss auf äußere Netzhautschäden ziehen zu können (Asakawa, Ishikawa et al. 2014). Auch für solche Untersuchungen bietet sich das mobile Messgerät an.

Im Anschluss dieser Arbeit soll das Messgerät weiter optimiert werden. Ziel ist es, ein besseres Kamerasystem zur Messung des Pupillendurchmessers zu integrieren. Es soll eine plattformunabhängige Benutzeroberfläche geschaffen werden, die die Auswertung des Pupillendurchmessers effizienter ermöglicht. Das ganze System soll kostenoptimiert weiterentwickelt werden, um eine attraktive Alternative zu den bisher verfügbaren Systemen darzustellen.

Danksagung

Ich möchte mich bei meinem Doktorvater, Professor Ernst Pöppel bedanken, mich als Doktoranden angenommen zu haben, sowie für die Betreuung und die Freiheiten die er mir während der Promotion gewährt hat.

Ein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Professor Herbert Plischke, der mir immer mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat und alle meine Fragen beantworten konnte.

Ein großes Dankeschön gilt meinen Kollegen aus dem Generation Research Program, Ludwig Maximilians Universität München, und meinen Betreuern und Kollegen aus dem Graduiertenkolleg Demenz des Netzwerk AlternsfoRschung, Universität Heidelberg.

An dieser Stelle möchte ich mich auch ganz herzlich bei der Robert-Bosch-Stiftung bedanken, die über das Netzwerk AlternsfoRschung das Graduiertenkolleg Demenz gefördert haben.

Natürlich gebührt mein Dank auch den vielen Ungenannten, die im Großen und im Kleinen ihren Teil dazu beigetragen haben, dass ich diese Promotion durchführen konnte.

Zuletzt möchte ich mich ganz besonders bei meiner Freundin und meinem Vater bedanken, die mir vor und während der Promotion und bei allem anderen immer unterstützend zur Seite gestanden sind.

Anhang

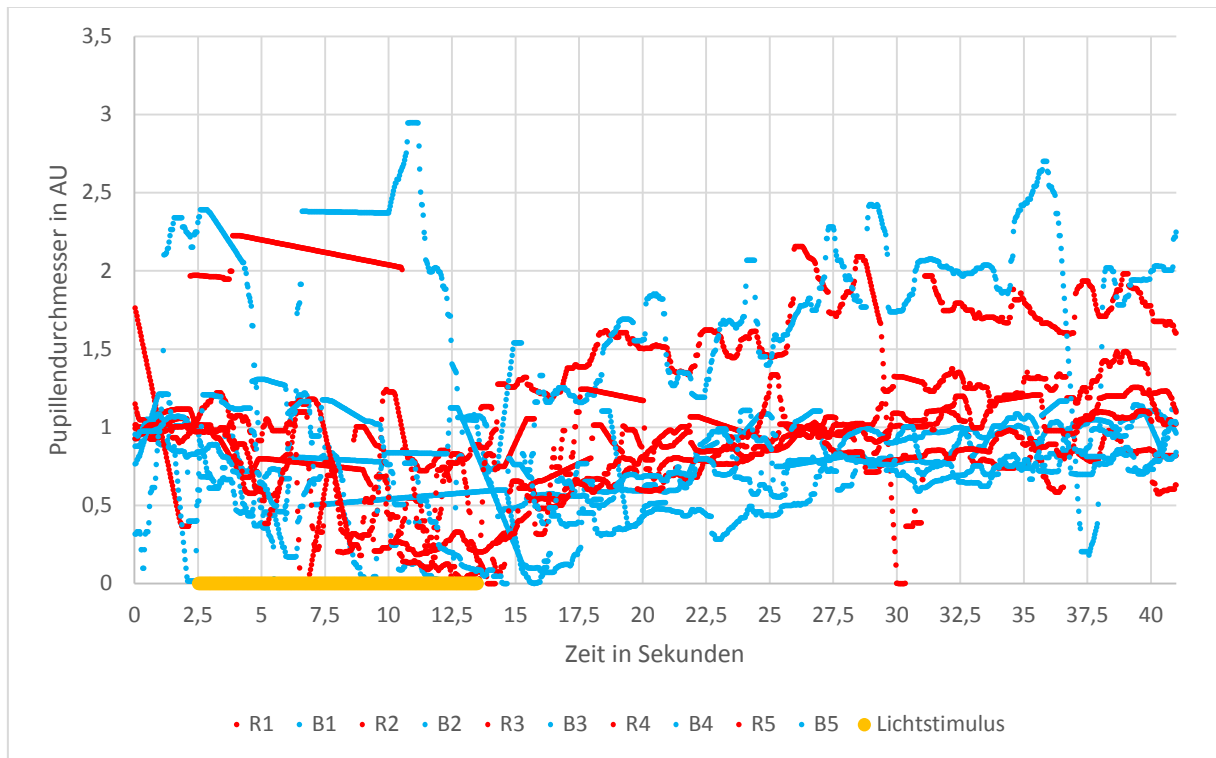


Abbildung 51: Proband1: Die Testperson ist weiblich, 84 Jahre alt und leidet an einer Form der senilen Demenz. Der MMSE-Score liegt bei 5. Sie trägt keine Sehhilfe. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

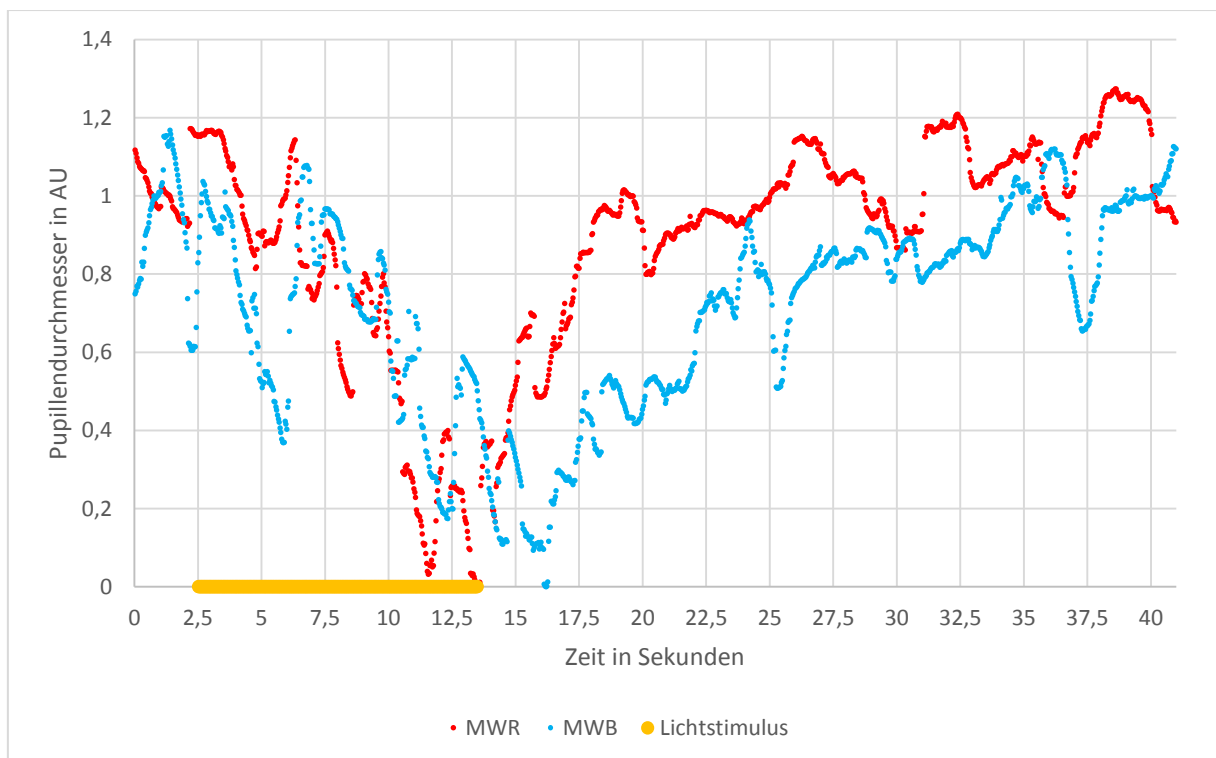


Abbildung 52: Proband1: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

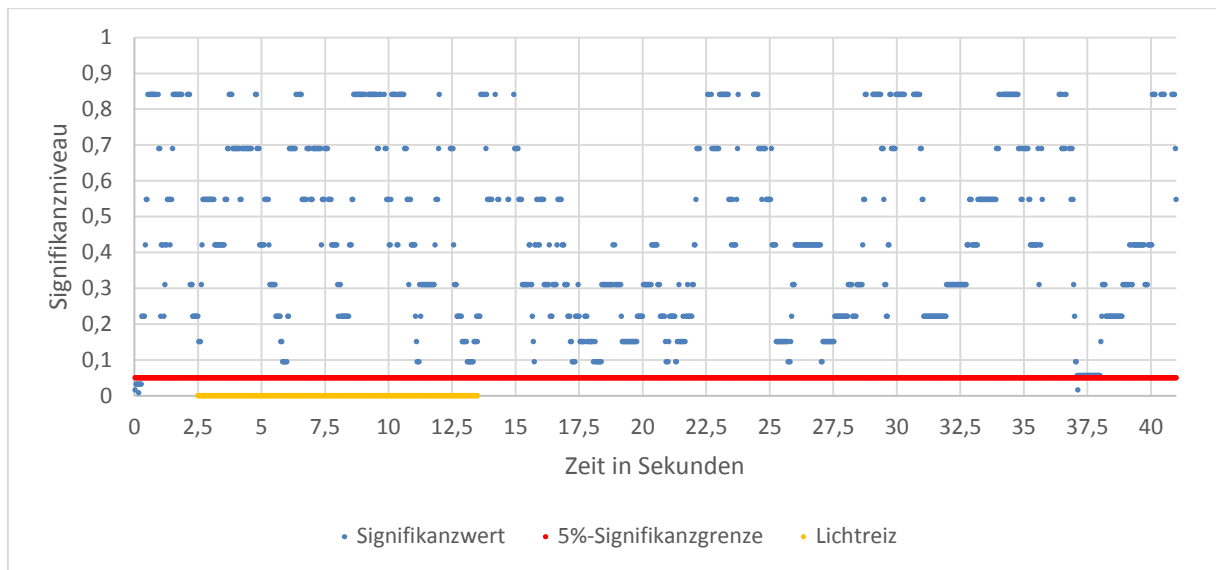


Abbildung 53: Proband 1: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen. Um als signifikant unterschiedlich zu gelten, hätte die Grenze für einen kontinuierlichen und längeren Zeitraum unterschritten werden, müssen.

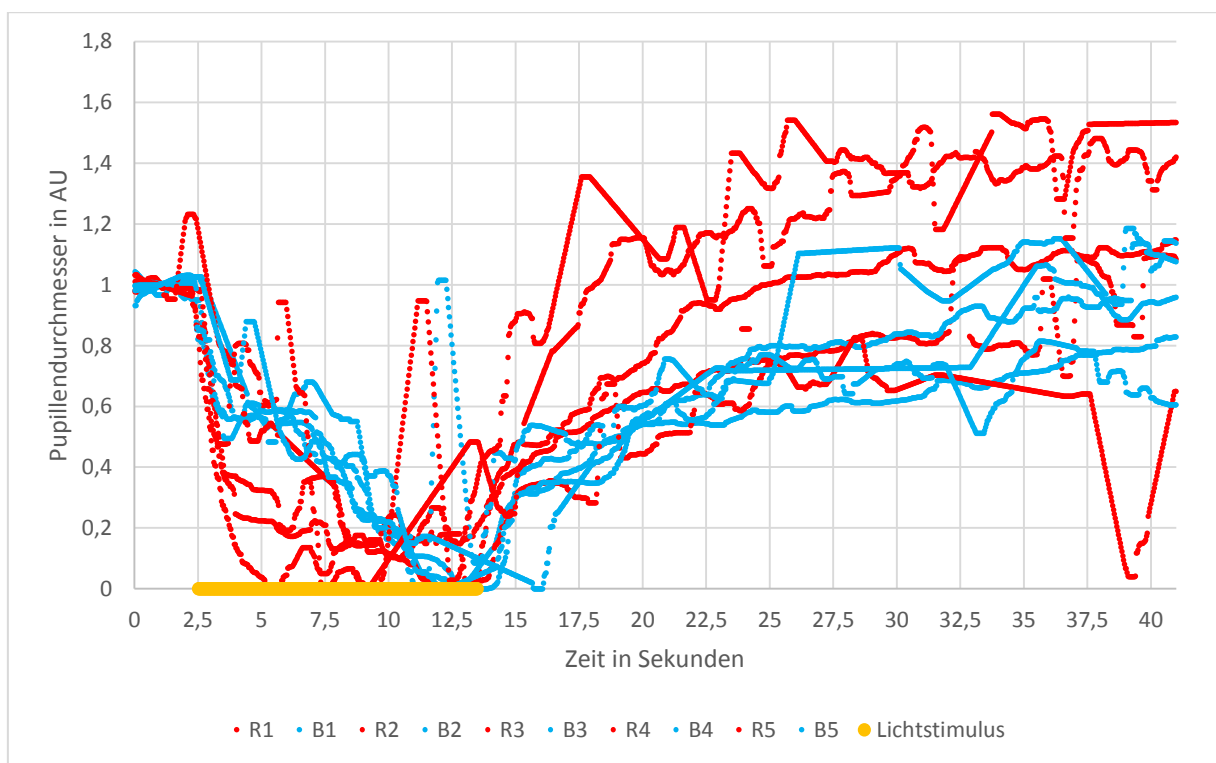


Abbildung 54: Proband 2: Die Testperson ist weiblich, 85 Jahre alt und leidet an einer Form der senilen Demenz. Es liegt der Verdacht für eine schwere Form der Demenz vor. Sie benutzt eine Fernbrille. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

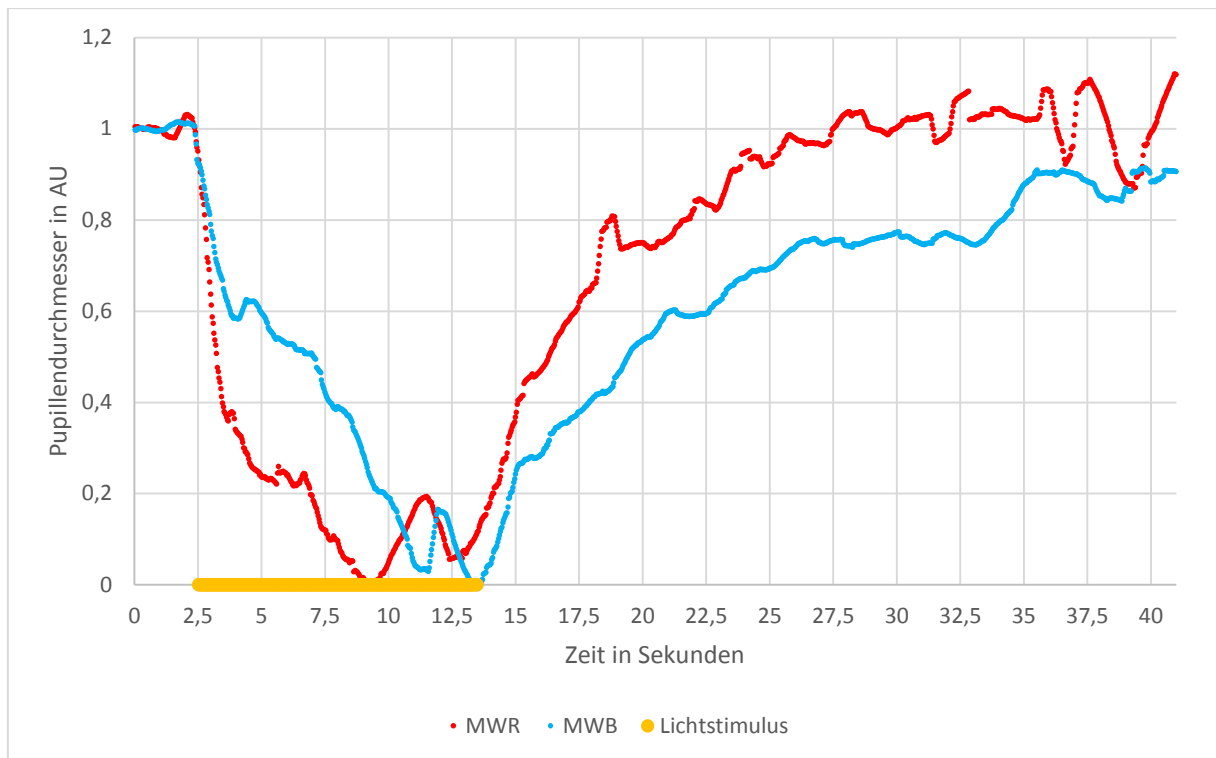


Abbildung 55: Proband 2: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

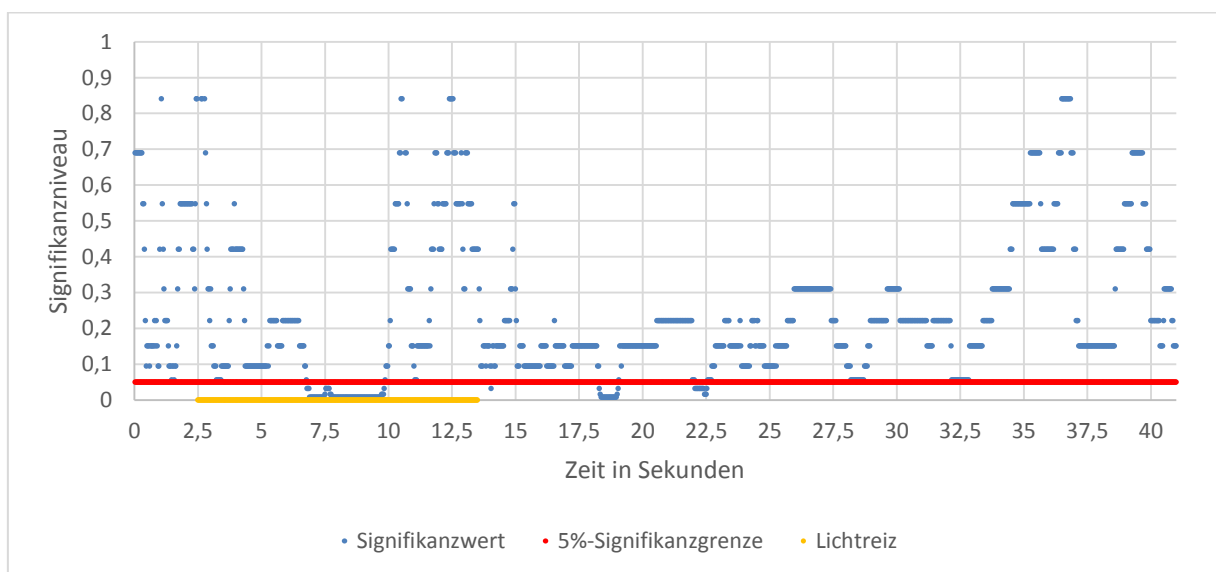


Abbildung 56: Proband 2: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen. Um als signifikant unterschiedlich zu gelten, hätte die Grenze für einen kontinuierlichen und längeren Zeitraum unterschritten werden müssen.

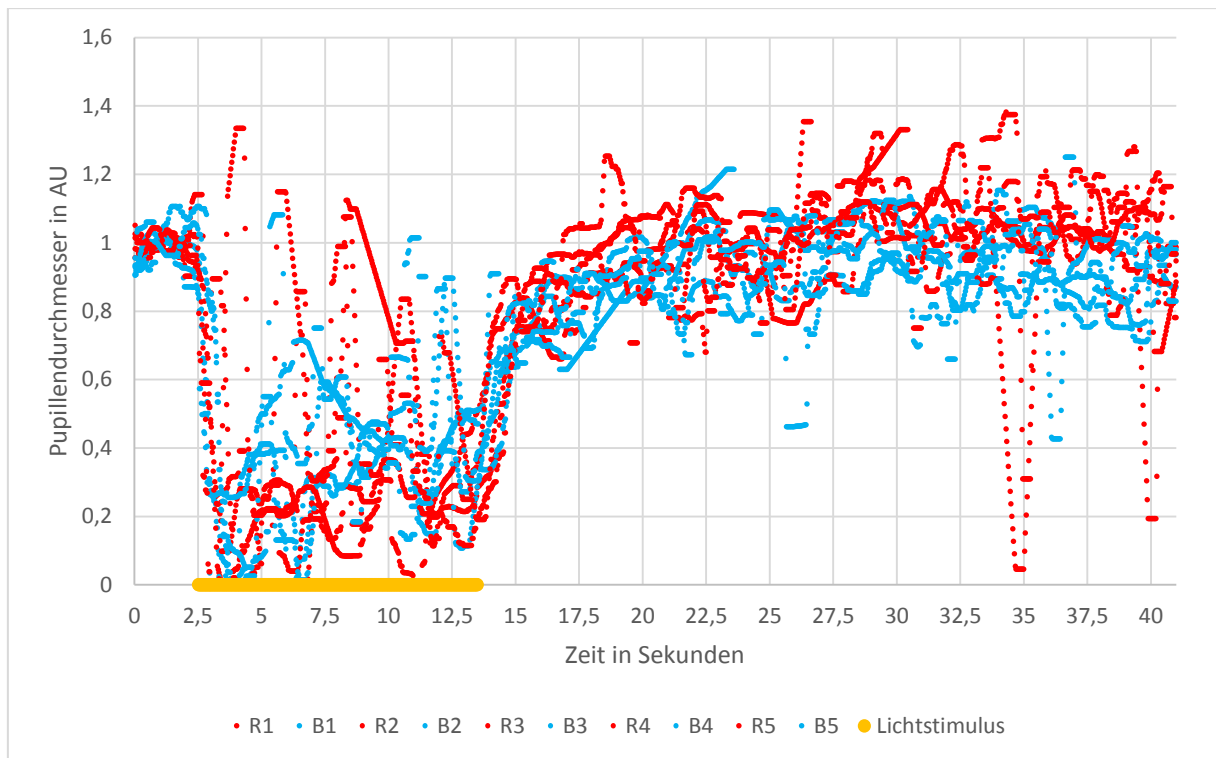


Abbildung 57: Proband 3: Die Testperson ist weiblich, 89 Jahre alt und leidet an einer Demenz Typ Alzheimer. Es liegt ein Verdacht für eine leichte Form der Demenz vor. Sie benutzt eine Fern- und Lesebrille. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

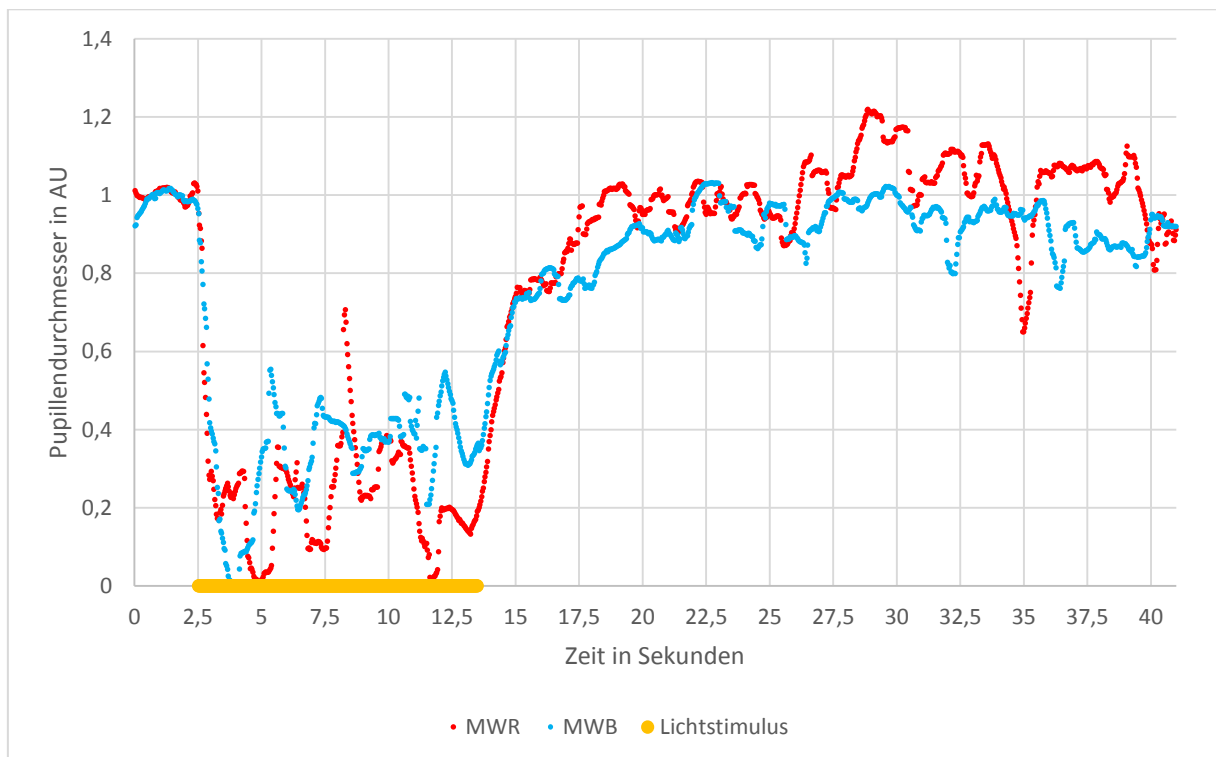


Abbildung 58: Proband 3: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

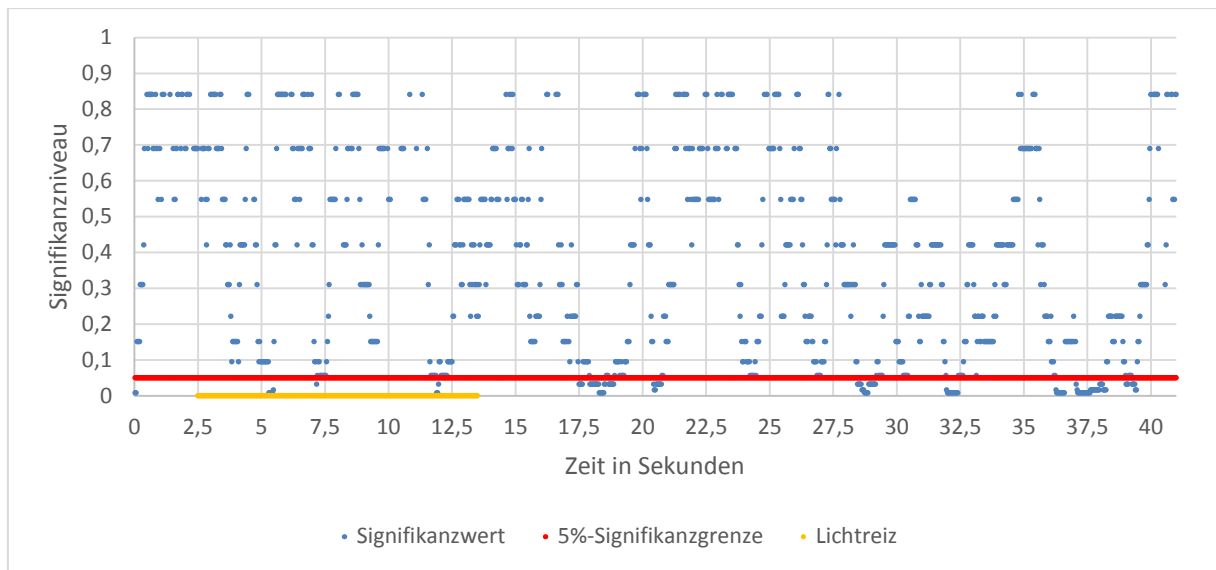


Abbildung 59: Proband 3: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen. Um als signifikant unterschiedlich zu gelten, hätte die Grenze für einen kontinuierlichen und längeren Zeitraum unterschritten werden müssen.

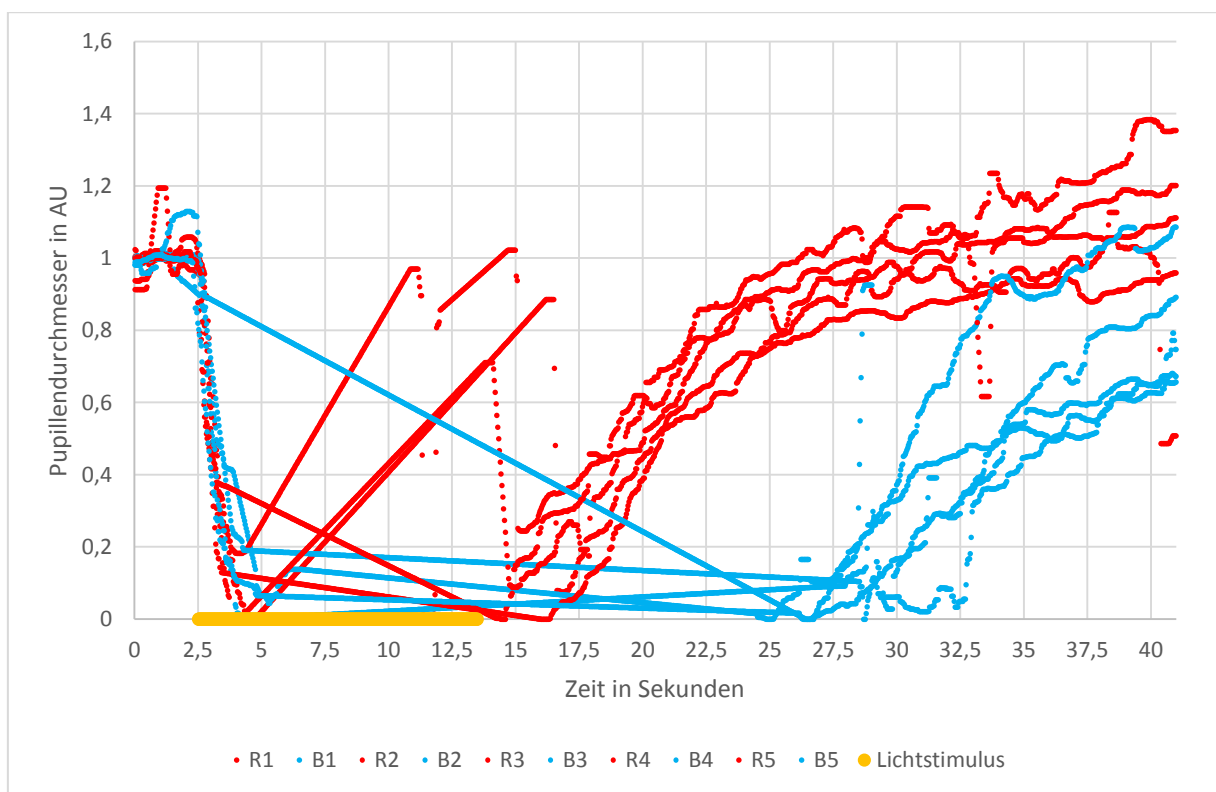


Abbildung 60: Proband 4: Die Testperson ist weiblich, 89 Jahre alt und leidet an einer Demenz Typ Alzheimer. Der MMSE-Score liegt bei 25. Sie trägt eine Sehhilfe. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus. Zwar sind für einen Großteil der Messungen die Messwerte stark interpoliert und geben nicht den genauen Zeitpunkt bekannt, wann sich die Pupille wieder weitet, jedoch lässt sich aus dem Kurvenverlauf vermuten, dass es einen deutlichen Unterschied für rote, bzw. blaue Lichtstimuli gibt.

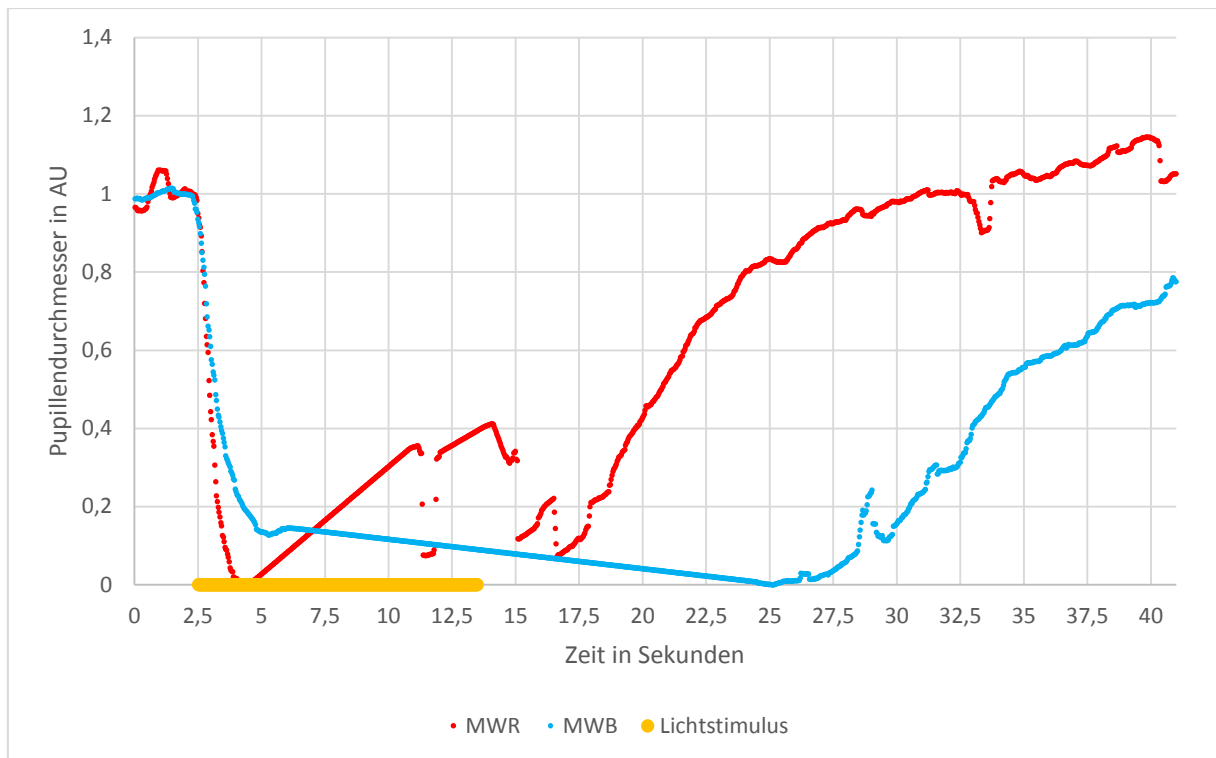


Abbildung 61: Proband 4: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

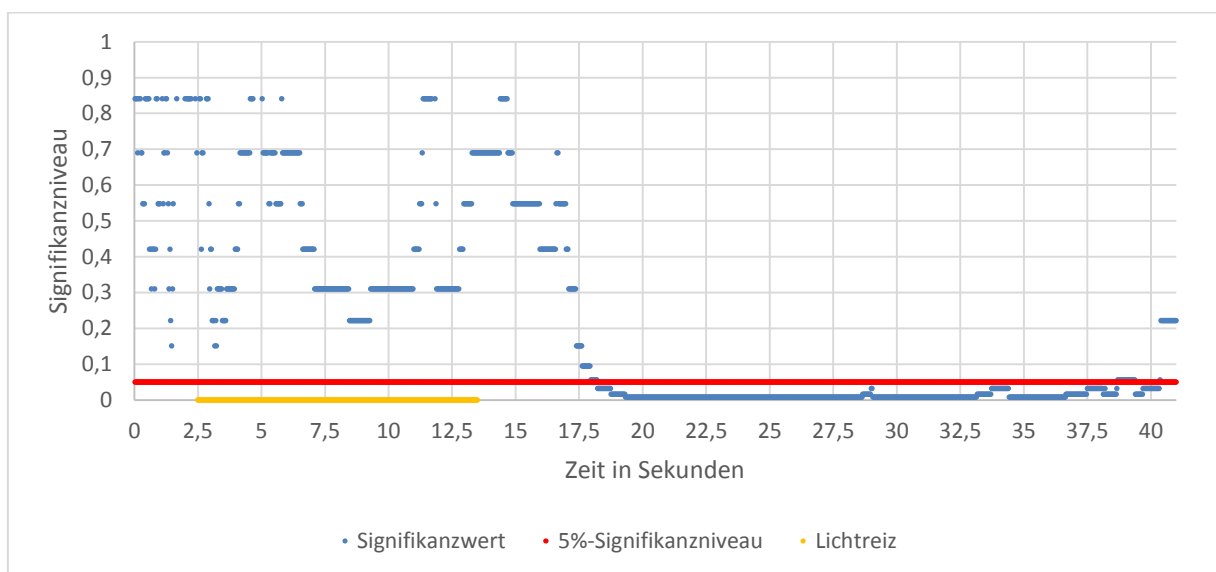


Abbildung 62: Proband 4: Aufgrund der interpolierten Messkurven besteht die Vermutung, dass die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze bereits zu einem früheren Zeitpunkt stattfindet. Aus dem Verlauf der Messkurven geht außerdem hervor, dass es sich um ein deutlich unterschiedliches Ergebnis handelt.

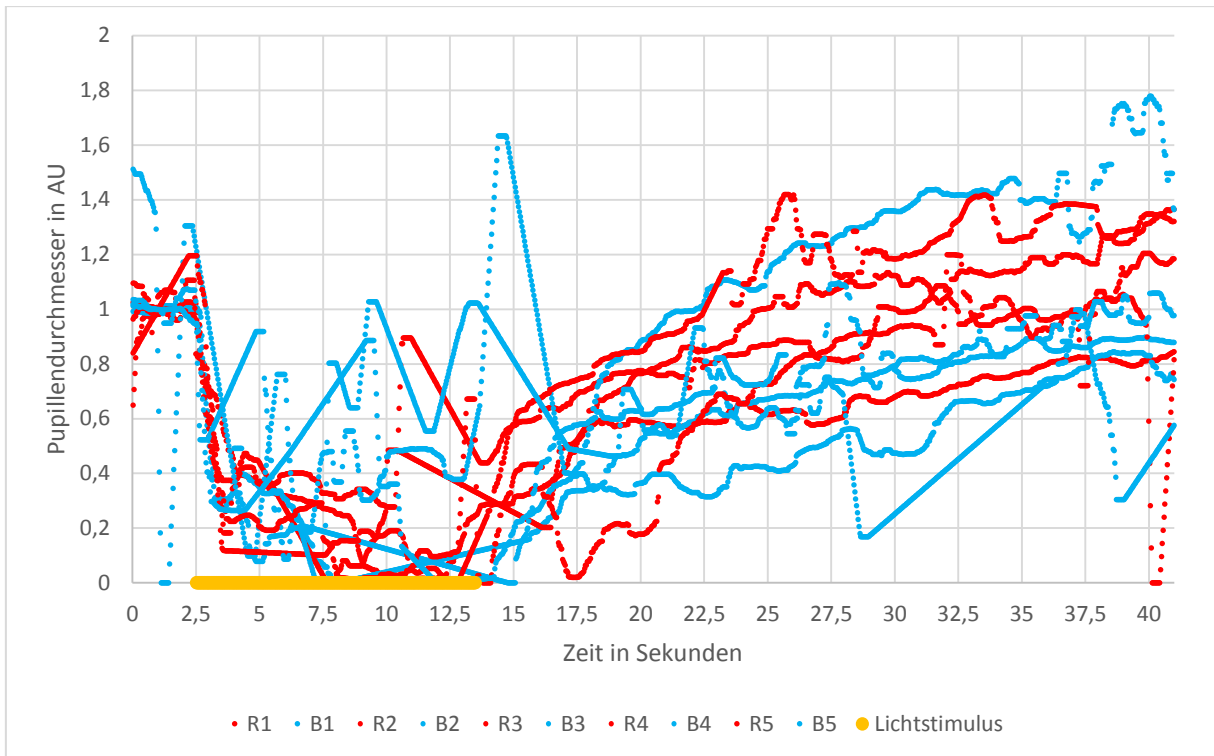


Abbildung 63: Proband 5: Die Testperson ist weiblich und 94 Jahre alt. Es liegt keine genauere Diagnose über die Art der Demenz vor. Sie trägt eine Fernbrille. Es ist bekannt, dass die Testperson an einem Katarakt und Glaukom leidet oder gelitten hat. Es ist nicht genauer spezifiziert, welches Auge wie betroffen ist oder betroffen war. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

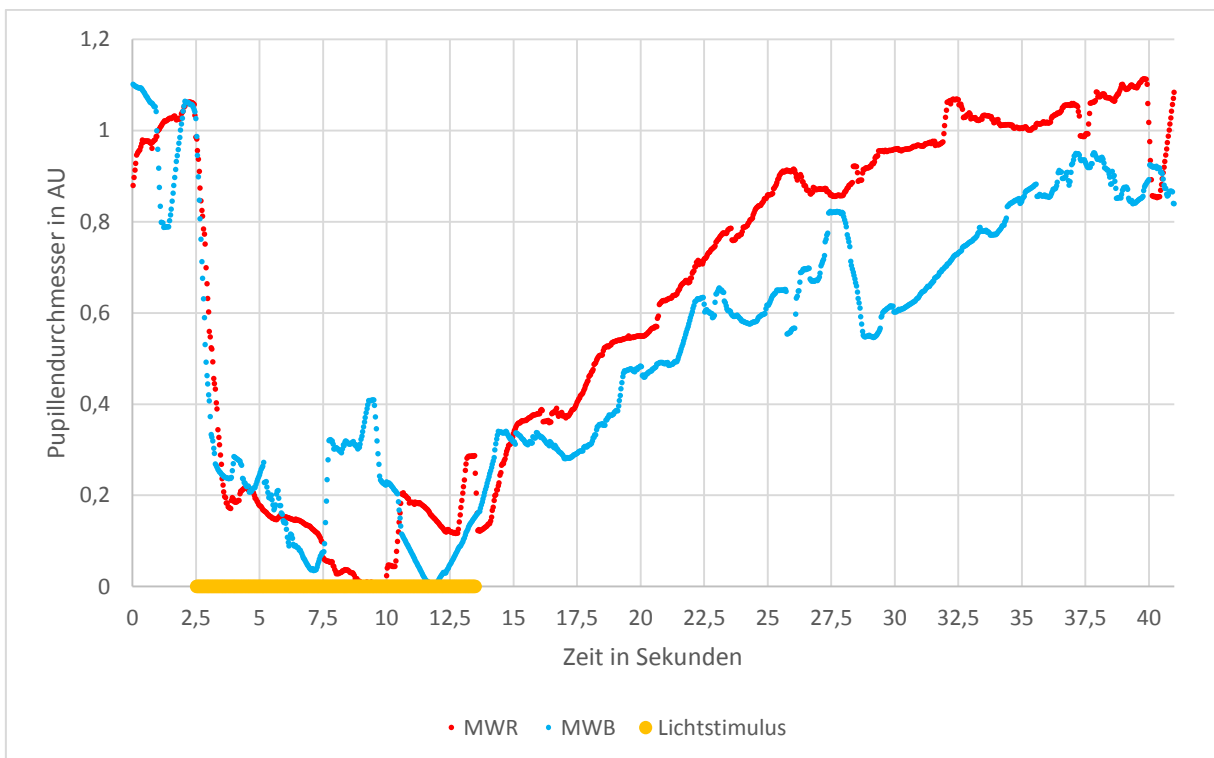


Abbildung 64: Proband 5: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.

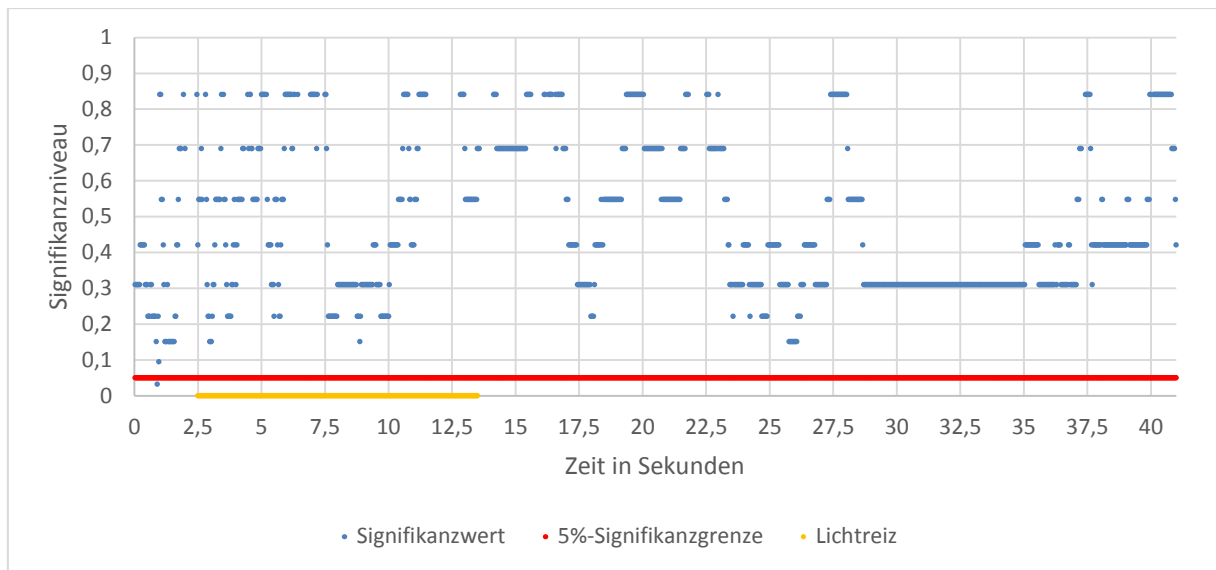


Abbildung 65: Proband 5: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen.

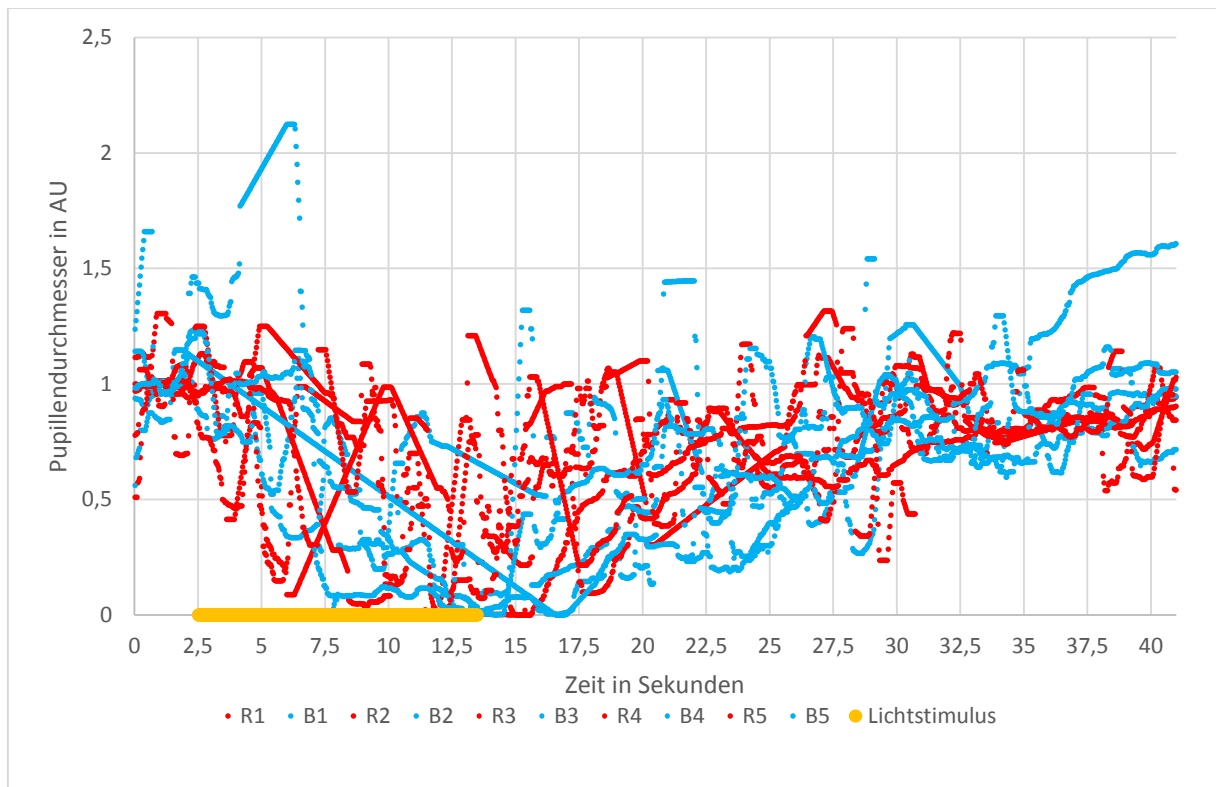
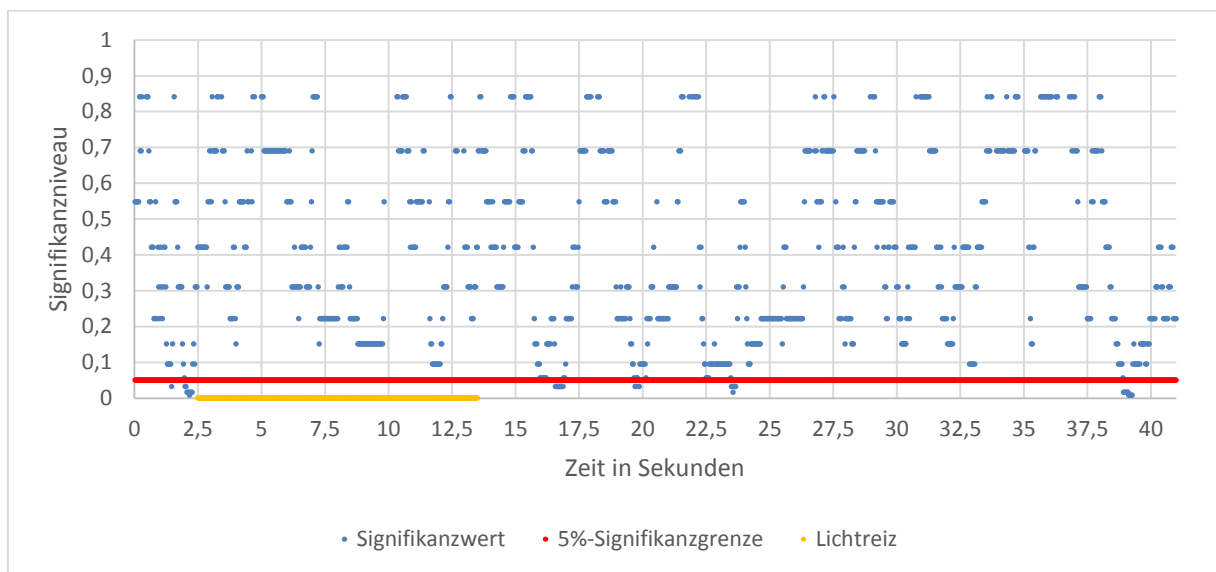
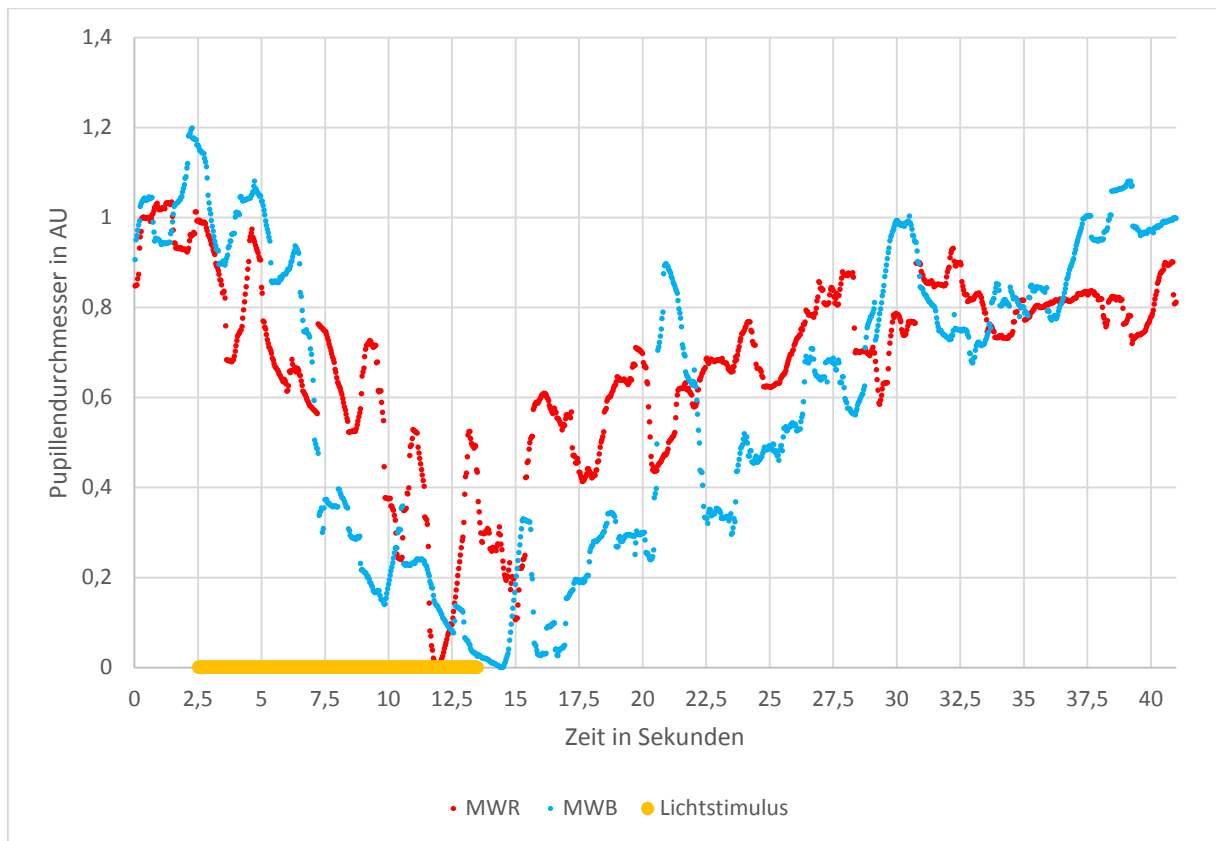


Abbildung 66: Proband 6: Die Testperson ist männlich, 86 Jahre alt und leidet an einer unspezifizierten Demenzform. Der MMSE-Score liegt bei 3. Er trägt keine Brille. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.



Literaturverzeichnis

Adler, J. S., D. F. Kripke, R. T. Loving and S. L. Berga (1992). "Peripheral vision suppression of melatonin." Journal of pineal research **12**(2): 49-52.

Ancoli-Israel, S., J. L. Martin, P. Gehrman, T. Shochat, J. Corey-Bloom, M. Marler, S. Nolan and L. Levi (2003). "Effect of light on agitation in institutionalized patients with severe Alzheimer disease." The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry **11**(2): 194-203.

Aoki, H., N. Yamada, Y. Ozeki, H. Yamane and N. Kato (1998). "Minimum light intensity required to suppress nocturnal melatonin concentration in human saliva." Neuroscience letters **252**(2): 91-94.

Asakawa, K., H. Ishikawa, Y. Ichibe and K. Shimizu (2014). "Utility of colored-light pupil response in patients with age-related macular degeneration." The Kitasato medical journal **44**(2): 195-200.

Bouma, H. (1962). "Size of the static pupil as a function of wavelength and luminosity of the light incident on the human eye." Nature **193**: 690-691.

Brainard, G. C., J. P. Hanifin, J. M. Greeson, B. Byrne, G. Glickman, E. Gerner and M. D. Rollag (2001). "Action spectrum for melatonin regulation in humans: evidence for a novel circadian photoreceptor." The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience **21**(16): 6405-6412.

Bundesgesundheitsblatt (2007). "[The (crypto-)pyrroluria in environmental medicine: a valid diagnosis? Report of the "Methods and Quality Assurance in Environmental Medicine" Committee]]." Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz **50**(10): 1324-1330.

Chen, S. K., T. C. Badea and S. Hattar (2011). "Photoentrainment and pupillary light reflex are mediated by distinct populations of ipRGCs." Nature **476**(7358): 92-95.

Cohen, J. (1988). Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences, L. Erlbaum Associates.

Dacey, D. M., H.-W. Liao, B. B. Peterson, F. R. Robinson, V. C. Smith, J. Pokorny, K.-W. Yau and P. D. Gamlin (2005). "Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN." Nature **433**(7027): 749-754.

Dawson, D. and N. Encel (1993). "Melatonin and sleep in humans." J Pineal Res **15**(1): 1-12.

Dickmann, M. (2012). Development of a measurement device for chromatic pupillometry. Master of Science Master Thesis, Munich University of Applied Science.

Dillon, J., L. Zheng, J. C. Merriam and E. R. Gaillard (2004). "Transmission of light to the aging human retina: possible implications for age related macular degeneration." Exp Eye Res **79**(6): 753-759.

- Dollins, A. B., I. V. Zhdanova, R. J. Wurtman, H. J. Lynch and M. H. Deng (1994). "Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(5): 1824-1828.
- Erren, T. C., P. Morfeld, J. Stork, P. Knauth, M. J. von Mulmann, R. Breitstadt, U. Muller, M. Emmerich and C. Piekarski (2009). "Shift work, chronodisruption and cancer?--The IARC 2007 challenge for research and prevention and 10 theses from the Cologne Colloquium 2008." Scand J Work Environ Health **35**(1): 74-79.
- Erren, T. C., H. G. Pape, R. J. Reiter and C. Piekarski (2008). "Chronodisruption and cancer." Naturwissenschaften **95**(5): 367-382.
- Friedman, L., A. P. Spira, B. Hernandez, C. Mather, J. Sheikh, S. Ancoli-Israel, J. A. Yesavage and J. M. Zeitzer (2012). "Brief morning light treatment for sleep/wake disturbances in older memory-impaired individuals and their caregivers." Sleep Med **13**(5): 546-549.
- Gertz, S. D., M. Liebman and M. Schünke (2003). Basiswissen Neuroanatomie: Leicht verständlich, knapp, klinikbezogen, Thieme.
- Glasl, S. (2013). Pupil detection software for chromatic pupillometry diagnostic testing. Bachelor of Engineering Bachelor Thesis, Munich University of Applied Science.
- Glickman, G., J. P. Hanifin, M. D. Rollag, J. Wang, H. Cooper and G. C. Brainard (2003). "Inferior retinal light exposure is more effective than superior retinal exposure in suppressing melatonin in humans." Journal of biological rhythms **18**(1): 71-79.
- Harding, G., A. J. Wilkins, G. Erba, G. L. Barkley and R. S. Fisher (2005). "Photic- and Pattern-induced Seizures: Expert Consensus of the Epilepsy Foundation of America Working Group." Epilepsia **46**(9): 1423-1425.
- Hilgers, R.-D., P. Bauer, V. Scheiber and K. U. Heitmann (2007). Einführung in Die Medizinische Statistik, Springer.
- Kankipati, L., C. A. Girkin and P. D. Gamlin (2010). "Post-illumination pupil response in subjects without ocular disease." Investigative ophthalmology & visual science **51**(5): 2764-2769.
- Kardon, R., S. C. Anderson, T. G. Damarjian, E. M. Grace, E. Stone and A. Kawasaki (2009). "Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex." Ophthalmology **116**(8): 1564-1573.
- Kleine, B. and W. Rossmanith (2009). Hormone und Hormonsystem: Lehrbuch der Endokrinologie, Springer.
- Kühlke, D. (2004). Optik: Grundlagen und Anwendungen ; mit Tabellen, Beispielen und Aufgaben mit Lösungen, Deutsch.

- Lasko, T. A., D. F. Kripke and J. A. Elliot (1999). "Melatonin suppression by illumination of upper and lower visual fields." Journal of biological rhythms **14**(2): 122-125.
- Lorenz, B., E. Strohmayer, S. Zahn, C. Friedburg, M. Kramer, M. Preising and K. Stieger (2012). "Chromatic pupillometry dissects function of the three different light-sensitive retinal cell populations in RPE65 deficiency." Invest Ophthalmol Vis Sci **53**(9): 5641-5652.
- Lucas, R. J., S. N. Peirson, D. M. Berson, T. M. Brown, H. M. Cooper, C. A. Czeisler, M. G. Figueiro, P. D. Gamlin, S. W. Lockley, J. B. O'Hagan, L. L. A. Price, I. Provencio, D. J. Skene and G. C. Brainard (2014). "Measuring and using light in the melanopsin age." Trends in Neurosciences **37**(1): 1-9.
- McIntyre, I. M., T. R. Norman, G. D. Burrows and S. M. Armstrong (1989). "Human melatonin suppression by light is intensity dependent." Journal of pineal research **6**(2): 149-156.
- Meesters, Y., V. Dekker, L. J. Schlangen, E. H. Bos and M. J. Ruiter (2011). "Low-intensity blue-enriched white light (750 lux) and standard bright light (10,000 lux) are equally effective in treating SAD. A randomized controlled study." BMC Psychiatry **11**: 17.
- Munch, M. and A. Kawasaki (2013). "Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: classification, function and clinical implications." Curr Opin Neurol **26**(1): 45-51.
- Novotny, P., P. Paulick, M. Schwarz and H. Plischke (2013). The Solid Angle of Light Sources and Its Impact on the Suppression of Melatonin in Humans. Human-Computer Interaction. Towards Intelligent and Implicit Interaction. M. Kurosu, Springer Berlin Heidelberg. **8008**: 454-463.
- Papageorgiou, P., A. Katsambas and A. Chu (2000). "Phototherapy with blue (415 nm) and red (660 nm) light in the treatment of acne vulgaris." British Journal of Dermatology **142**(5): 973-978.
- Park, J. C., A. L. Moura, A. S. Raza, D. W. Rhee, R. H. Kardon and D. C. Hood (2011). "Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response." Invest Ophthalmol Vis Sci **52**(9): 6624-6635.
- Poeck, K. and W. Hacke (2006). Neurologie, Springer London, Limited.
- Prajapati, B., M. Dunne and R. Armstrong (2010). "Sample size estimation and statistical power analyses." Optometry Today **16**(07).
- Rastad, C., J. Ulfberg and P. Lindberg (2011). "Improvement in Fatigue, Sleepiness, and Health-Related Quality of Life with Bright Light Treatment in Persons with Seasonal Affective Disorder and Subsyndromal SAD." Depress Res Treat **2011**: 543906.
- Reiter, R. J. (1996). Melatonin, Random House LLC.

- Remington, L. A. (2012). Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System, Elsevier/Butterworth-Heinemann.
- Ruger, M., M. C. Gordijn, D. G. Beersma, B. de Vries and S. Daan (2005). "Nasal versus temporal illumination of the human retina: effects on core body temperature, melatonin, and circadian phase." Journal of biological rhythms **20**(1): 60-70.
- Sand, A., T. M. Schmidt and P. Kofuji (2012). "Diverse types of ganglion cell photoreceptors in the mammalian retina." Prog Retin Eye Res **31**(4): 287-302.
- Schmidt, R. F. and F. Lang (2007). Physiologie des Menschen: mit Pathophysiologie, Springer London, Limited.
- Schmidt, T. M., S. K. Chen and S. Hattar (2011). "Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions." Trends Neurosci **34**(11): 572-580.
- Schmidt, T. M. and P. Kofuji (2009). "Functional and morphological differences among intrinsically photosensitive retinal ganglion cells." J Neurosci **29**(2): 476-482.
- Shiraishi, H., T. Fujiwara, Y. Inoue and K. Yagi (2001). "Photosensitivity in relation to epileptic syndromes: a survey from an epilepsy center in Japan." Epilepsia **42**(3): 393-397.
- Silbernagl, S., A. Despopoulos and R. Gay (2003). Taschenatlas der Physiologie, Thieme.
- Sloane, P. D., C. S. Williams, C. M. Mitchell, J. S. Preisser, W. Wood, A. L. Barrick, S. E. Hickman, K. S. Gill, B. R. Connell, J. Edinger and S. Zimmerman (2007). "High-intensity environmental light in dementia: effect on sleep and activity." Journal of the American Geriatrics Society **55**(10): 1524-1533.
- Spira, A. P., L. P. Chen-Edinboro, M. N. Wu and K. Yaffe (2014). "Impact of sleep on the risk of cognitive decline and dementia." Curr Opin Psychiatry **27**(6): 478-483.
- Thapan, K., J. Arendt and D. J. Skene (2001). "An action spectrum for melatonin suppression: evidence for a novel non-rod, non-cone photoreceptor system in humans." The Journal of physiology **535**(Pt 1): 261-267.
- van Hoof, J., M. P. J. Aarts, C. G. Rense and A. M. C. Schoutens (2009). "Ambient bright light in dementia: Effects on behaviour and circadian rhythmicity." Building and Environment **44**(1): 146-155.
- Visser, E. K., D. G. Beersma and S. Daan (1999). "Melatonin suppression by light in humans is maximal when the nasal part of the retina is illuminated." Journal of biological rhythms **14**(2): 116-121.
- Wirz-Justice, A., K. Krauchi, C. Cajochen, K. V. Danilenko, C. Renz and J. M. Weber (2004). "Evening melatonin and bright light administration induce additive phase shifts in dim light melatonin onset." J Pineal Res **36**(3): 192-194.
- Yu, H.-S. and R. J. Reiter (1992). Melatonin: Biosynthesis, physiological effects, and clinical applications, CRC Press.

Zulley, J. (1993). Schlafen und Wachen als biologischer Rhythmus, Roderer.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verteilung der Stäbchen und Zapfen auf der Netzhaut.....	17
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Verknüpfung von Stäbchen und Zapfen und den M1-ipRGCs und deren Verbindung zu OPN und SCN.	19
Abbildung 3: Genetisch modifizierte Mäuse bei denen entsprechende Gene ausgeschaltet wurden. a) Kontrollgruppe mit normalem PLR und b) entferntem Brn3b-Positiv in Mäusen mit verändertem PLR. (Chen, Badea et al. 2011).....	19
Abbildung 4: Die Ergebnisse des PLR für einen roten und einen blauen Stimulus von Kardon (Kardon, Anderson et al. 2009).....	20
Abbildung 5: Rezeptorfunktion nach Park (Park, Moura et al. 2011). a) + b) Funktion der Stäbchen bei geringer Lichtintensität mit einem blauen Stimulus. b) Funktion der ipRGCs bei erhöhter Lichtintensität mit einem blauen Stimulus. d) Funktion der Zapfen mit erhöhter Lichtintensität und blauem Hintergrund.....	21
Abbildung 6: Spektrale Hellempfindlichkeitskurven des menschlichen Auges und die Empfindlichkeitskurve für die Melatoninsuppression nach Thapan (Thapan, Arendt et al. 2001).....	22
Abbildung 7: Eine Messeinrichtung, wie sie in den Versuchen von Kardon (Kardon, Anderson et al. 2009) verwendet wurde. Der Messaufbau ist groß und für Laborversuche angepasst, lässt sich aber umständlich im Feld einsetzen.	25
Abbildung 8: Eine weitere Messeinrichtung, wie sie in den Versuchen von Lorenz (Lorenz, Strohmayer et al. 2012) verwendet wurde. Auch hier ist der Messaufbau für einen Versuch im Feld ungünstig oder nur für bestimmte Personengruppen geeignet.	25
Abbildung 9: Schematische Darstellung der Reizweiterleitung für den PLR. In Rot die Nervenbahnen von der Retina über das Chiasma opticum zum Nucleus praetectalis, zum Nucleus Edinger-Westphal. In Blau die Rückführung zur Regulation der Pupille. Die Informationsweiterleitung für das andere Auge ist identisch.	28
Abbildung 10: Erste Ideenskizzen der Pupillometriemesseinrichtung. a) Explosionsskizze b) Halbschnitt c) Gesamtkonzept zusammengefügt d) Detail im Halbschnitt der Beleuchtungseinheit	29
Abbildung 11: Prinzip-Darstellung der Streuung an der beschichteten Innenwand der Halbsphäre.....	30

Abbildung 12: Erste experimentale Umsetzung der Pupillometriemessbrille im Rahmen einer Masterarbeit.....	31
Abbildung 13: Gemessener PLR zwischen rotem und blauem Stimulus bei unterschiedlichen Leuchtdichten bei einem Probanden. Vergleich die Ergebnisse von Kardon Abbildung 4.....	32
Abbildung 14: Die Beleuchtungseinheit besteht aus einem Dom, dessen Innenfläche matt weiß beschichtet wurde, um eine homogene Beleuchtung zu ermöglichen. Das Beleuchtungsmodul lässt sich mit einer Magnetkupplung am Rahmen der Messbrille befestigen. Sicht auf die Innenseite mit aktiven blauen LEDs.....	33
Abbildung 15: Normierte spektrale Verteilung der RGB-LEDs. Peakwellenlängen für Rot 630 nm, Grün 522 nm und Blau 468 nm.....	34
Abbildung 16: Dargestellt ist die gemessene Leuchtdichte in Abhängigkeit der am RGB-Controller einstellbaren digitalen Werte. Aufgrund der Gewichtung nach der $V(\lambda)$ -Kurve für photometrische Messverfahren beträgt die maximal mögliche Leuchtdichte weniger als 125 cd/m^2	35
Abbildung 17: Eine energetische Betrachtung der RGB-LEDs zeigt den Unterschied zwischen radiometrischer und photometrischer Bewertung.	35
Abbildung 18: Beleuchtungssquenz mit rotem und blauem Lichtimpuls. In den beiden Bildausschnitten ist eine gleichmäßige Beleuchtung über einen Teil der Innenfläche des Doms zu erkennen.....	36
Abbildung 19: Lichtprotokoll 1. Eine Sequenz zur Bestimmung des PLR. Insgesamt sechs Pulse mit einer Länge von je 1 s. Die Dauer zum nächsten Puls nach einem roten Puls beträgt jeweils 10 s. Die Dauer zum nächsten Puls nach einem blauen Puls beträgt jeweils 30 s.....	37
Abbildung 20: Lichtprotokoll 2. In der Grafik dargestellt ist ein sich insgesamt fünfmal wiederholender Abschnitt von zwei alternierenden Lichtreizen (rot und blau). Die jeweils ansteigende Flanke (Dauer 10 s), soll eine akute Blendung vermeiden. Gehalten wird der Lichtreiz bei voller Intensität jeweils für eine Sekunde. Zwischen den Lichtreizen besteht eine 30 s andauernde Dunkelphase.....	38
Abbildung 21: Kameramodul - das Kameramodul lässt sich über eine Magnetkupplung am Rahmen der Messbrille befestigen. Die Kamera lässt sich über einen Kunststoffschlitten in x- und y-Richtung verschieben um sich an die jeweilige Kopfgeometrie anzupassen. Oberhalb des Kameraobjektivs ist eine IR-LED zur Beleuchtung angebracht, die sich mit bewegt.	38

Abbildung 22: (links) Pupillometriemessbrille Version 2b mit montiertem Kameramodul und Beleuchtungseinheit von vorne. (rechts) Rückansicht der Pupillometriemessbrille mit angeschlossenem RGB-Controller und aktiver blauer Beleuchtung.	40
Abbildung 23: Proband 5. Zu sehen ist die Darstellung der zusammenhängenden Rohdaten (orange) und der bereits interpolierten und median gefilterten Messwerte (rot). Die Artefakte entstehen beim Blinzeln oder bei einer Falscherkennung, zum Beispiel des äußeren Irisrandes. Letzteres tritt jedoch selten auf.....	45
Abbildung 24: Proband 21_1. Dargestellt sind die Rohdaten (orange) gegenüber den interpolierten und mediangefilterten Messwerten (rot) eines Demenzpatienten. Die Artefaktdichte liegt hier im Vergleich zu den gesunden Probanden deutlich höher und beschränkt sich nicht nur auf Artefakte durch Blinzeln, sondern auch auf Falscherkennung durch das Zusammenkneifen von Augen und Schattenbildung, was dann als ausreichender Kontrastunterschied und annähernder Kreis beziehungsweise Ellipse erkannt wird. Problematisch sind auch zumeist altersbedingte herabhängende Augenlider, die die Pupille teilweise verdecken.....	46
Abbildung 25: Der hier abgebildete Versuchsteilnehmer ist männlich, 23 Jahre alt und Brillen- bzw. Kontaktlinsenträger. Es liegen nach eigenen Angaben keine Augenerkrankungen vor. Nach Aussetzen des Lichtreizes driftet das Pupillenverhalten für rote (R1 bis R3) und blaue (B1 bis B3) Lichtstimuli deutlich sichtbar auseinander. Der Pupillendurchmesser nähert sich langsamer dem Ausgangszustand der Pupille an.....	49
Abbildung 26: Der hier abgebildete Versuchsteilnehmer ist männlich, 33 Jahre alt und kein Brillen- oder Kontaktlinsenträger. Es liegen nach eigenen Angaben keine Augenerkrankungen vor. Nach aussetzen des Lichtreizes driftet das Pupillenverhalten für rote (R1 bis R3) und blaue (B1 bis B3) Lichtstimuli deutlich sichtbar auseinander. Der Pupillendurchmesser nähert sich langsamer dem Ausgangszustand der Pupille an.....	50
Abbildung 27: Dargestellt sind die Mittelwerte für die zwei Lichtstimuli rot (MW_R) und blau (MW_B) über alle 24 Probanden. Zu erkennen ist, dass der Pupillendurchmesser für die roten Lichtstimuli schneller zum Ausgangszustand der Pupille zurück kehrt als für die blauen Lichtstimuli.....	51

- Abbildung 28: Ein junger Mann (Alter 24), mit einer Stoffwechselerkrankung (Kryptopyrrolurie). Er trägt keine Sehhilfe. Das Pupillenverhalten bleibt nach Abschalten des Lichtreizes bis etwa 1,5 s für beide Lichtreize rot und blau sehr ähnlich und lässt sich erst ab Zeitpunkt 3,5 s (1,5 s nach Abschalten des Lichtreizes) besser differenzieren.52
- Abbildung 29: Hier ist der Zeitbereich vergrößert dargestellt. Es ist zu sehen, dass die Kurvenverläufe des Pupillendurchmessers für den roten und blauen Lichtstimulus ab dem Zeitpunkt 3,5 s (1,5 s nach abschalten des Lichtreizes) anfangen, langsam besser differenzierbar zu sein.53
- Abbildung 30: Eine ältere Frau (Alter 70), deren Pupillenreaktion in Abhängigkeit der Lichtfarbe keinen Unterschied aufweist.....54
- Abbildung 31: Die vergrößerte Darstellung der Pupillenreaktion aufgrund unterschiedlicher Lichtreize zeigt noch einmal deutlicher, dass bei dieser älteren Person keine Differenzierung zwischen dem PLR aufgrund eines roten und blauen Lichtstimulus möglich ist.55
- Abbildung 32: Die in dieser Grafik dargestellten blauen Punkte bilden den Signifikanzwert zu den entsprechenden Messzeitpunkten. Ab >2,5 s (>0,5 s nach abschalten des Lichtreizes) fällt der Signifikanzwert unterhalb $p = ,05$ (rote Linie) und verweilt dort für die Zeit der Messdauer. Nach bereits >2,5s (>0,5 s nach Abschalten des Lichtreizes) ist ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Messkurven des Pupillendurchmessers für einen roten, beziehungsweise einen blauen Lichtstimulus nachweisbar.56
- Abbildung 33: Der Graph zeigt den zeitlichen Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR zwischen Männern und Frauen für einen roten Lichtstimulus besteht. Für einen signifikanten Unterschied der Geschlechter müsste der Signifikanzwert (blaue Kurve) unterhalb der roten Linie liegen.57
- Abbildung 34: Hier dargestellt ist der zeitliche Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR zwischen Männern und Frauen für einen blauen Lichtstimulus besteht. Für einen signifikanten Unterschied der Geschlechter müsste der Signifikanzwert (blaue Kurve) unterhalb der roten Linie liegen.57
- Abbildung 35: Abgebildet ist der zeitliche Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR in Abhängigkeit eines roten und blauen Lichtstimulus bei Männern eintritt. Mit Unterschreiten des Grenzwertes (rote Linie) bei <3 s (<2 s nach Abschalten des

Lichtreizes) ist ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Lichtstimuli und dem resultierenden PLR vorhanden.....	58
Abbildung 36: Das hier abgebildete Signifikanzverhalten zeigt den zeitlichen Verlauf, ab wann ein Unterschied des PLR in Abhängigkeit eines roten und blauen Lichtstimulus bei Frauen eintritt. Mit Unterschreitung des Grenzwertes (rote Linie) bei >2,5 s (>1,5 s nach Abschalten des Lichtreizes) ist ein signifikanter Unterschied in beiden Pupillenreaktionen aufgrund der unterschiedlichen Lichtstimuli vorhanden.....	58
Abbildung 37: Die Effektstärke zu den jeweiligen Messzeitpunkten steigt kurz nach Abschalten des Lichtstimulus rapide an und übersteigt nach >2,5 s (>0,5 s nach Abschalten des Lichtreizes) bereits die Grenze für einen starken Effekt ($d = 0,8$). Mit zunehmender Zeit wird auch der gemessene Effekt immer größer.	59
Abbildung 38: Mit zunehmender Effektstärke wird die Power (Teststärke) größer. Bereits für einen starken Effekt ($d = 0,8$) ist die Teststärke auf über 80% angewachsen.	60
Abbildung 39: Mit zunehmender Probanden- bzw. Testanzahl reduziert sich die Möglichkeit für einen zufälligen Unterschied zwischen roten und blauen Lichtstimulus für den PLR. Bei der hohen Effektstärke reicht bereits eine sehr geringe Zahl von Probanden aus, um die statistische Berechnung des signifikanten Unterschiedes zu stützen.	60
Abbildung 40: Mit einer großen Effektstärke ($d > 1$), reduziert sich die Möglichkeit für einen Fehler I. bzw. II. Art. Ebenso bleibt die Power (Teststärke) für ein strengeres Signifikanzniveau ebenfalls auf einem hohen Level.	61
Abbildung 41: Proband 7: Die Testperson ist weiblich, 77 Jahre alt und leidet an einer Form der senilen Demenz. Sie hat einen MMSE-Score von 20. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Die Testperson trägt normalerweise eine Brille. Man kann erkennen, dass trotz Artefaktkorrektur noch einige Artefakte vorhanden sind. Diese müssen bei der weiteren Auswertung mit berücksichtigt werden.	62
Abbildung 42: Proband 7: Die gemittelten Kurven aus Abbildung 41 zeigen einen sichtbaren Unterschied im Pupillenverhalten für einen roten und einen blauen Lichtstimulus.	63
Abbildung 43: Proband 8: Die Testperson ist weiblich, 96 Jahre alt. Ihre Demenzform ist nicht näher spezifiziert. Auch Sie hat einen MMSE-Score von 20. Es ist nicht	

bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Die Testperson trägt normalerweise eine Brille. Die hier auftretenden Artefakte können trotz der Korrekturmaßnahmen auch nicht alle beseitigt werden. Auch hier muss dies bei der weiteren Auswertung mit berücksichtigt werden.	64
Abbildung 44: Proband 8: Die gemittelten Kurven aus Abbildung 43 zeigen keinen sichtbaren Unterschied im Pupillenverhalten für einen roten und blauen Lichtstimulus.	65
Abbildung 45: Proband 7: Die Testperson zeigt kurz nach Abschalten des Lichtreizes einen signifikanten Unterschied zwischen einem roten und einem blauen Lichtreiz ($p < ,05$) in ihrem Pupillenverhalten. Dies weist darauf hin, dass die Reizweiterleitung für den PLR und damit wahrscheinlich auch zum SCN gewährleistet ist.	66
Abbildung 46: Proband 8: Die Testperson zeigt zu keinem Zeitpunkt einen Unterschied in Ihrem Pupillenverhalten aufgrund der unterschiedlichen Lichtstimuli. Die Ursache kann verschiedene Gründe haben und bedarf weiterer Klärung.....	66
Abbildung 47: Proband 7: Der Verlauf der Effektstärke für jeden Messzeitpunkt zeigt trotz der hohen Artefaktzahl, dass die signifikanten Ergebnisse aus Abbildung 45 mit einem hohen Effekt korrelieren.....	67
Abbildung 48: Proband 8: Für diese Versuchsperson schwankt die Effektstärke für jeden Messzeitpunkt im unteren Bereich der Skala. Zwar sind die nach Cohen definierten Effektstärkegrade auch für einen starken Effekt (0,8) übertroffen, so ist dieser für die geringe Messzahl jedoch nicht ausreichend, um den, wie in Abbildung 46 dargestellten, Unterschied signifikant zu bestätigen.....	67
Abbildung 49: Mit zunehmender Effektstärke wird die Power (Teststärke) größer. Durch die geringe Stichprobenzahl ist ein sehr großer Effekt (1,8) notwendig um über die geforderten 80% zu gelangen, um einen Fehler II Art auszuschließen.	68
Abbildung 50: Dargestellt ist der Mittelwert des PLR für sieben Probanden aus den Versuchen von Park für einen roten und einen blauen Lichtstimulus bei unterschiedlichen Leuchtdichten (1 log entspricht 10 cd/m ² ; 2 log entspricht 125 cd/m ²)	69
Abbildung 51: Proband1: Die Testperson ist weiblich, 84 Jahre alt und leidet an einer Form der senilen Demenz. Der MMSE-Score liegt bei 5. Sie trägt keine Sehhilfe.	

Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	76
Abbildung 52: Proband1: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	76
Abbildung 53: Proband 1: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen. Um als signifikant unterschiedlich zu gelten, hätte die Grenze für einen kontinuierlichen und längeren Zeitraum unterschritten werden, müssen.	77
Abbildung 54: Proband 2: Die Testperson ist weiblich, 85 Jahre alt und leidet an einer Form der senilen Demenz. Es liegt der Verdacht für eine schwere Form der Demenz vor. Sie benutzt eine Fernbrille. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	77
Abbildung 55: Proband 2: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	78
Abbildung 56: Proband 2: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen. Um als signifikant unterschiedlich zu gelten, hätte die Grenze für einen kontinuierlichen und längeren Zeitraum unterschritten werden müssen.	78
Abbildung 57: Proband 3: Die Testperson ist weiblich, 89 Jahre alt und leidet an einer Demenz Typ Alzheimer. Es liegt ein Verdacht für eine leichte Form der Demenz vor. Sie benutzt eine Fern- und Lesebrille. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	79
Abbildung 58: Proband 3: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	79
Abbildung 59: Proband 3: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen. Um als signifikant unterschiedlich zu gelten, hätte die Grenze für einen kontinuierlichen und längeren Zeitraum unterschritten werden müssen.	80

Abbildung 60: Proband 4: Die Testperson ist weiblich, 89 Jahre alt und leidet an einer Demenz Typ Alzheimer. Der MMSE-Score liegt bei 25. Sie trägt eine Sehhilfe. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus. Zwar sind für einen Großteil der Messungen die Messwerte stark interpoliert und geben nicht den genauen Zeitpunkt bekannt, wann sich die Pupille wieder weitet, jedoch lässt sich aus dem Kurvenverlauf vermuten, dass es einen deutlichen Unterschied für rote, bzw. blaue Lichtstimuli gibt.	80
Abbildung 61: Proband 4: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	81
Abbildung 62: Proband 4: Aufgrund der interpolierten Messkurven besteht die Vermutung, dass die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze bereits zu einem früheren Zeitpunkt stattfindet. Aus dem Verlauf der Messkurven geht außerdem hervor, dass es sich um ein deutlich unterschiedliches Ergebnis handelt.	81
Abbildung 63: Proband 5: Die Testperson ist weiblich und 94 Jahre alt. Es liegt keine genauere Diagnose über die Art der Demenz vor. Sie trägt eine Fernbrille. Es ist bekannt, dass die Testperson an einem Katarakt und Glaukom leidet oder gelitten hat. Es ist nicht genauer spezifiziert, welches Auge wie betroffen ist oder betroffen war. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.....	82
Abbildung 64: Proband 5: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	82
Abbildung 65: Proband 5: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen.....	83
Abbildung 66: Proband 6: Die Testperson ist männlich, 86 Jahre alt und leidet an einer unspezifizierten Demenzform. Der MMSE-Score liegt bei 3. Er trägt keine Brille. Es ist nicht bekannt, ob in der Vergangenheit oder aktuell Erkrankungen am Auge vorliegen. Hier dargestellt sind die einzelnen Messkurven für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	83
Abbildung 67: Proband 6: Der Mittelwert des PLR für den roten, bzw. blauen Lichtstimulus.	84

Abbildung 68: Proband 6: Für diese Testperson ist kein signifikanter Unterschied festzustellen. Die Unterschreitung der 5%-Signifikanzgrenze ist auf Artefakte zurückzuführen. Um als signifikant unterschiedlich zu gelten, hätte die Grenze für einen kontinuierlichen und längeren Zeitraum unterschritten werden müssen.
.....84

Eidesstattliche Versicherung

Novotny, Philipp

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Entwicklung eines mobilen Messgerätes zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit intrinsisch photosensitiver retinaler Ganglienzellen

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen, keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorliegende Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ort, Datum

Unterschrift